



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA



**ACTIVIDAD INHIBITORIA IN VITRO DEL *Lactobacillus reuteri*
DERIVADO DEL BIOGAIA, LECHE MATERNA HUMANA Y DE
VACA FRENTE A CEPAS DEL *Streptococcus mutans*, PUNO - 2023.**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. NATIVIDAD MAGALY PANCCA QUISPE

Bach. MAGNOLIA ZAMATA ARAPA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

CIRUJANO DENTISTA

PUNO – PERÚ

2024



Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO

ACTIVIDAD INHIBITORIA IN VITRO DEL L
actobacillus reuteri DERIVADO DEL BIOG
AIA, LECHE MATERNA HUMANA

AUTOR

NATIVIDAD MAGALY, MAGNOLIA PANCA
CA QUISPE , ZAMATA ARAPA

RECuento DE PALABRAS

16330 Words

RECuento DE CARACTERES

90118 Characters

RECuento DE PÁGINAS

112 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

29.0MB

FECHA DE ENTREGA

Jan 7, 2024 9:43 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Jan 7, 2024 9:45 PM GMT-5

● 19% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada b

- 18% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 11% Base de datos de trabajos entregados
- 4% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de C

● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Material citado
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 8 palabras)


Dra. Luz D. Mamani Cahua
COP. 6759
ESPECIALISTA EN REHABILITACIÓN ORAL
DOCENTE - UNA


Dra. Sheyla L. Cervantes Alagón
COP. 17362

Resumen



DEDICATORIA

*Dedicado para mis queridos padres por
ayudarme incondicionalmente en cada
paso del transcurso de mi vida
universitaria*

*A mi amiga Mérari por apoyarme todo
el tiempo con la tesis y por brindarme
su amistad incondicional. A mi amigo
Jesús por inspirarme y a enseñarme
tener pasión por la odontología*

Natividad Magaly Pancca Quispe



DEDICATORIA

*Doy gracias a Dios por guiar mis pasos,
por iluminar mi camino, por darme
sabiduría, fuerza y coraje para hacer
realidad mis sueños.*

*A mi pareja Omar Vilca y mi mayor
regalo mi pequeña hija Enma
Cataleya quienes son el motivo más
grande por el cual quiero cumplir
mis objetivos los dos tesoros más
valiosos en mi vida.*

*A mis queridos padres, Eleuterio
Zamata (+) y Trinidad Arapa,
quienes con amor y dedicación me
enseñaron, me mostraron el
camino del desarrollo, me
apoyaron y agradecieron y me
hicieron la persona que soy hoy.*

*A mis hermanos Adrivich (papitas) y
Margoth (cuisito) que con su presencia
y cariño me impulsan a seguir
adelante enseñándome que mi hija es
el motivo por el cual tengo que
cumplir cada meta trazada.*

Magnolia Zamata Arapa



AGRADECIMIENTOS

Damos gracias a Dios por guiarnos y bendecirnos en este momento. Por darnos familias maravillosas que creyeron en nosotras hasta en nuestros peores momentos y por darnos un ejemplo de seguir adelante, de humildad y sacrificio; Para lograr este objetivo, enséñanos a valorar todo lo que tenemos.

A nuestra querida asesora Dra. Sheyla Lenna Cervantes Alagón por habernos guiado en cada paso del proyecto y brindarnos su ayuda con sus conocimientos para lograr terminar satisfactoriamente este trabajo.

Agradecemos de forma especial a nuestros miembros del jurado Dra. Kandy F. Tuero Chirinos, Dr. Jhony R. Rodríguez Mamani y Dr. Carlos Cutimbo Quispe, les agradecemos su conocimiento, motivación, disponibilidad y apoyo incondicional durante la preparación de este estudio.

Lic Lorgio Palacios Frisancho por compartir su conocimiento, guiarnos en cada paso del proceso de investigación y ayudarnos a tomar buenas decisiones sobre este proyecto de investigación.

Natividad Magaly Pancca Quispe

Magnolia Zamata Arapa



ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTOS	
ÍNDICE GENERAL	
ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE FIGURAS	
ACRÓNIMOS	
RESUMEN.....	14
ABSTRACT.....	15
CAPÍTULO I	
INTRODUCCIÓN	
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	17
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	18
1.3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	18
1.4. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN.....	19
1.4.1. Hipótesis General	20
1.4.2. Hipótesis Específicas	20
1.5. OBJETIVOS.....	21
1.5.1. Objetivo General	21
1.5.2. Objetivos Específicos	21
CAPÍTULO II	
REVISIÓN DE LITERATURA	
2.1. ANTECEDENTES	22
2.1.1. Antecedentes Internacionales	22



2.1.2.	Antecedentes Nacionales	26
2.1.3.	Antecedentes Locales	28
2.2.	MARCO TEÓRICO	30
2.2.1.	Probióticos	30
2.2.1.1.	Efecto Sistémico.....	30
2.2.1.2.	Enfermedades sistémicas donde el tratamiento de probióticos tuvo éxito.....	31
2.2.1.3.	Probióticos en Odontología	31
2.2.2.	Lactobacillus Reuteri.....	32
2.2.2.1.	Taxonomía del Lactobacillus reuteri.....	33
2.2.2.2.	Propiedades Probióticas del Lactobacillus reuteri.....	33
2.2.2.3.	Componentes del Lactobacillus reuteri	33
2.2.3.	Lactobacillus Reuteri del BioGaia (DSM 17938)	34
2.2.4.	Leche Materna Humana	35
2.2.4.1.	Componentes de la leche materna.....	36
2.2.4.2.	Uso de la leche como antibiótico.....	38
2.2.5.	Leche De Vaca	39
2.2.6.	Microbiota de la Cavidad Oral	39
2.2.6.1.	Disbiosis en el microbiota de la cavidad oral.....	39
2.2.7.	Streptococcus mutans	40
2.2.7.1.	Taxonomía del Streptococcus Mutans	41
2.2.8.	Caries dental	41

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.	UBICACIÓN GEOGRAFÍA DE LA INVESTIGACIÓN	43
-------------	--	-----------



3.1.1. Ámbito General	43
3.1.2. Ámbito Específico	44
3.2. PERIODO Y DURACIÓN DEL ESTUDIO	44
3.3. TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	44
3.4. POBLACIÓN Y MUESTRA DE ESTUDIO	45
3.4.1. Población	45
3.4.2. Muestra	45
3.4.3. Criterios de selección	45
3.5. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	47
3.6. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	48
3.6.1. Técnicas	48
3.6.2. Procedimiento	48
3.6.2.1. Obtención de la Bacteria del <i>Lactobacillus reuteri</i> del BioGaia (DSM 17938) Protectis	48
3.6.2.2. Obtención de la Bacteria del <i>Lactobacillus reuteri</i> de la Leche Materna Humana	48
3.6.2.3. Obtención de la Bacteria del <i>Lactobacillus reuteri</i> de la Leche de vaca.....	49
3.6.2.4. Preparación Agar	50
3.6.2.5. Elaboración de las concentraciones del <i>Lactobacillus reuteri</i> del BioGaia.....	51
3.6.2.6. Elaboración de las concentraciones del <i>Lactobacillus reuteri</i> de la leche materna humana.....	52
3.6.2.7. Elaboración de las concentraciones del <i>Lactobacillus reuteri</i> de la leche de vaca	52



3.6.2.8. Preparación del agar Mueller Hinton sangre(18)	53
3.6.2.9. Siembra de la muestra	54
3.6.2.10. Aplicación de los discos por el método de Kirby Bauer (19)...	54
3.6.2.11. Incubación	55
3.6.2.12. Recolección de datos	55
3.6.2.13. Análisis estadístico	56
3.6.2.14. Instrumentos	56
3.6.2.15. Materiales	56
3.7. CONSIDERACIÓN ÉTICAS.....	58
CAPÍTULO IV	
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1. RESULTADOS.....	59
4.1.1. Resultados para el objetivo general.....	59
4.1.2. Resultado para el primer objetivo específico	60
4.1.3. Resultado para el segundo objetivo específico.....	63
4.1.4. Resultado para el tercer objetivo específico	66
4.2. DISCUSIÓN.....	72
V. CONCLUSIONES.....	76
VI. RECOMENDACIONES	78
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80
ANEXOS.....	80



Área: Ciencias Biomédicas

Línea: Biología, crecimiento y desarrollo craneofacial

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 11 de enero del 2024



ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Operacionalización de variables.....	47
Tabla 2. Actividad inhibitoria del <i>Lactobacillus reuteri</i> aislada del BioGaia (DSM 17938), leche materna humana y leche de vaca frente a cepas del <i>Streptococcus mutans</i> Puno 2023	59
Tabla 3. Determinación de la actividad inhibitoria de la suspensión oral BioGaia (DSM 17938) en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% sobre las cepas del <i>Streptococcus mutans</i> a las 24 y 48 horas	60
Tabla 4. Determinación de la actividad inhibitoria del <i>Lactobacillus reuteri</i> aislada de la leche materna humana en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans</i> a las 24 y 48 horas.	63
Tabla 5. Determinación de la actividad inhibitoria del <i>Lactobacillus reuteri</i> aislada de la leche de vaca, en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% sobre las cepas del <i>Streptococcus mutans</i> a las 24 y 48 horas.	66
Tabla 6. Comparación de la actividad inhibitoria del <i>Lactobacillus reuteri</i> aislada de la suspensión oral BioGaia, leche materna humana y de vaca en concentraciones del 25% 50% 75% 100 % sobre las cepas del <i>Streptococcus mutans</i> a las 24 y 48 horas.	69



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación	43
Figura 2. Determinación de la actividad inhibitoria de la suspensión oral BioGaia (DSM 17938) en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% sobre las cepas del Streptococcus mutans a las 24 y 48 horas.	62
Figura 3. Determinación de la actividad inhibitoria del Lactobacillus reuteri aislada de la leche materna humana en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% sobre las cepas de Streptococcus mutans a las 24 y 48 horas.	65
Figura 4. Determinación de la actividad inhibitoria del Lactobacillus reuteri aislada de la leche de vaca en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% sobre las cepas del Streptococcus mutans a las 24 y 48 horas.	68
Figura 5. Prueba estadística de contraste de Games-Howell de la actividad inhibidora del Lactobacillus reuteri del BioGaia, leche materna humana y de vaca sobre las cepas del Streptococcus mutans en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% a las 24 y 48 horas.....	72



ACRÓNIMOS

SM:	<i>Streptococcus mutans</i>
LR:	<i>Lactobacillus reuteri</i>
BAL:	Bacterias Acido lácticas
GRAS:	Generalmente Reconocido como Seguro
MHA:	Mueller Hinton Agar
FAO:	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
OMS:	Organización Mundial de la Salud
LMH:	Leche Materna Humana



RESUMEN

Objetivos: Determinar la actividad inhibitoria in vitro del *Lactobacillus reuteri* aislada del BioGaia (DSM 17938), de la leche materna humana y de vaca, frente a cepas del *Streptococcus mutans* UNA - Puno 2023. **Metodología:** El nivel de estudio fue explicativo de diseño experimental, longitudinal y prospectivo. La muestra estuvo compuesta por cepas de *Streptococcus mutans* in vitro seleccionadas por conveniencia mediante muestreo no probabilístico con base en criterios de inclusión y exclusión. Se cultivaron 24 placas de Petri para 3 muestras diferentes con 8 discos de papel de filtro colocados en cada placa Petri y se utilizó la técnica de difusión en disco de Kirby Bauer y pocillos de agar modificado en un total de 192 placas y pocillos.; dividido en 4 grupos de diferentes concentraciones al 25%, 50 %, 75% y al 100%, se obtuvieron cepas de *Lactobacillus reuteri* a partir de la suspensión oral de BioGaia también de la fermentación de leche materna humana y leche de vaca. Para la detección de la actividad inhibitoria se utilizó el método de McFarland para diluir la carga bacteriana al 0,5% de turbidez y el método de Kirby Bauer para determinar la sensibilidad de la zona inhibitoria. El análisis de los datos se realizó mediante la prueba estadística t, la prueba de análisis de varianza de WELCH y la prueba GAMES-HOWELL para comparación. **Resultados:** Se demostró la actividad inhibitoria del *Lactobacillus reuteri* aislada de la suspensión oral BioGaia, leche materna humana y leche de vaca frente a las cepas del *Streptococcus mutans*. **Conclusiones:** La actividad inhibitoria in vitro del *Lactobacillus reuteri* de la leche de materna humana tanto a 24 como 48 horas es mayor frente a la suspensión oral del BioGaia y la leche de vaca, en las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100%, frente al *Streptococcus mutans*. **Palabras clave:** *Lactobacillus reuteri*, *Streptococcus mutans*, BioGaia, leche materna humana, leche de vaca.



ABSTRACT

Objectives: Determine the in vitro inhibitory activity of *Lactobacillus reuteri* isolated from BioGaia (DSM 17938), from human and cow breast milk, against strains of *Streptococcus mutans* UNA - Puno 2023. **Methodology:** The level of study was explanatory of experimental design, longitudinal and prospective. The samples consisted of strains of *Streptococcus mutans* in vitro, which were selected by non-probabilistic sampling for convenience according to the inclusion and exclusion criteria. 24 Petri Dishes of the 3 different samples were cultured and 8 filter paper discs were distributed in each dish, where the Kirby Bauer disc diffusion technique and modified agar wells were applied, making a total of 192 discs and wells; Divided into 4 groups of different concentrations at 25%, 50%, 75% and 100%, *Lactobacillus reuteri* strains were obtained from the BioGaia oral suspension also from the fermentation of human breast milk and cow's milk. To detect the inhibitory activity, the McFarland method was used to dilute the bacterial load to 0.5% turbidity and the Kirby Bauer method was used to determine the sensitivity of the inhibitory zone. Data analysis was performed using t-test statistics, WELCH analysis of variance test, and GAMES-HOWELL test for comparison. **Results:** The inhibitory activity of *Lactobacillus reuteri* isolated from BioGaia oral suspension, human breast milk and cow's milk against *Streptococcus mutans* strains was demonstrated. **Conclusions:** The in vitro inhibitory activity of *Lactobacillus reuteri* in human breast milk at both 24 and 48 hours is greater compared to the oral suspension of BioGaia and cow's milk, at concentrations of 25%, 50%, 75% and 100%, against *Streptococcus mutans*.

Keywords: *Lactobacillus reuteri*, *Streptococcus mutans*, BioGaia, human breast milk, cow's milk.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Actualmente se sabe que la caries es una enfermedad multifactorial causada por un desequilibrio de los factores protectores que promueven la re mineralización, siendo considerada la enfermedad bucal más común en nuestro país y región, un problema de salud pública debido al desequilibrio(1)

Así, una biopelícula es una comunidad formada por microorganismos como hongos, protozoos, arqueas, virus y bacterias como *Streptococcus mutans*, junto con otros agentes, desarrollan enfermedades como la caries dental(1)

Los probióticos son bacterias beneficiosas que mejoran el equilibrio microbiano del huésped. Estudios recientes han demostrado que los probióticos tienen un efecto positivo en la salud bucal y afectan la microecología bucal al cambiar la estructura proteica de la biopelícula. Esto ha impulsado a la investigación sobre los efectos anticaries de los probióticos. La resistencia bacteriana es una preocupación, para evitar este evento emergente, estamos tratando de encontrar nuevas formas de combatir los patógenos con métodos menos sintéticos y más naturales(2)

La leche es un producto ricamente nutritivo que, además de propiedades nutricionales, también posee propiedades inmunológicas y antimicrobianas descubiertas y probadas en diversos estudios, resultantes de la degradación de proteínas (caseína, lactoferrina, lactoalbúmina) es decir, a través del hidrólisis enzimática o la acción de microorganismos, los péptidos han demostrado ser capaces de combatir las bacterias y las infecciones que éstas provocan. porque presentan propiedades tanto bactericidas como



bacteriostáticas, que impiden la reproducción y supervivencia de las bacterias en el cuerpo(3)

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Está ampliamente aceptado que el potencial cariogénico de *Streptococcus mutans* radica en tres características principales: la capacidad de sintetizar grandes cantidades de polímeros de glucano extracelulares a partir de sacarosa, lo que promueve la colonización persistente de superficies sólidas, y el desarrollo in situ de una matriz polimérica extracelular. La capacidad de transportar y convertir diversos carbohidratos en ácidos orgánicos (ácidos) y la capacidad de crecer bajo estrés ambiental, especialmente en huecos creados por un pH bajo (ácido)(4).

El interés ha aumentado en la última década por el conocimiento científico sobre cómo combatir las enfermedades infecciosas con probióticos, lo que ha llevado a un aumento de los ensayos clínicos para investigar los posibles efectos de los probióticos en la salud bucal. Shookhee y Cols, demostraron que ciertas cepas de *Lactobacillus* tenían la capacidad de antagonizar ciertos patógenos orales como *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*(5)

Lactobacillus reuteri tuvo actividad inhibidora contra *Streptococcus mutans*, seguida de *T. forsythia* y *S. gordonii* y una actividad menos significativa contra *A.naeslundii*. Debido al efecto de *Lactobacillus reuteri* sobre dos patógenos importantes, consideramos su posible uso como potencial alimento funcional en la prevención o tratamiento de enfermedades bucales(6)

Lactobacillus reuteri DSM 17938 (LR 17938) es una cepa probiótica derivada de *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730. Esta última cepa se aisló originalmente de la leche materna de una madre peruana, pero luego se descubrió que contenía dos genes de



resistencia a antibióticos transmitidos por plásmidos. Luego se eliminaron para formar la cepa hija *Lactobacillus reuteri* 17938. Se ha demostrado que *Lactobacillus reuteri* 17938 inhibe el crecimiento de patógenos, modula el sistema inmunológico y produce potentes efectos antiinflamatorios(7)

Diversos estudios han demostrado que los péptidos derivados principalmente de las proteínas de la leche: la caseína, la lactoferrina y la lactoalbúmina actúan como potentes agentes antibacterianos biológicos, que tienen un efecto positivo al inhibir el crecimiento de bacterias y dañar la membrana celular externa (8).

Dado que los productos bacterianos de la leche materna están relacionados con la salud, el aislamiento de cepas probióticas de la leche ha sido el foco de varios estudios. El aislamiento de cepas probióticas es posible con las especies bacterianas tradicionales *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*(8)

El propósito de este estudio es investigar la actividad inhibitoria del *Lactobacillus reuteri* derivado del BioGaia (DSM 17938), leche materna humana y vaca frente a las cepas del *Streptococcus mutans* en diferentes concentraciones.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Existirá actividad inhibitoria in vitro del *Lactobacillus reuteri* aislada del BioGaia, leche materna humana y de vaca frente a cepas del *Streptococcus mutans*?

1.3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La caries dental, es una de las enfermedades más prevalente de la cavidad oral siendo uno de los mayores problemas en salud pública de nuestro país y región(9)



En la última década se ha generado mucho interés por el estudio de los probióticos y su potencial, para alterar el microbiota. La bacterioterapia en el campo de la salud bucal sería un método que utiliza bacterias beneficiosas para eliminar microorganismos patógenos como por ejemplo en la cavidad bucal, la biopelícula bacteriana, que se forma en los tejidos duros y blandos, se considera el principal factor etiológico de la mayoría de las afecciones patológicas de la cavidad bucal(5)

En la actualidad existe una tendencia a buscar nuevas sustancias antibacterianas que puedan reemplazar las sustancias antibacterianas existentes y que sean seguras. En la búsqueda de opciones de tratamiento, *Lactobacillus reuteri* puede representar una alternativa biológica para la prevención o tratamiento de enfermedades bucales(6)

Este estudio se realizó teniendo en cuenta la necesidad de encontrar soluciones efectivas y encontrar nuevas alternativas a los agentes antimicrobianos, para investigar las propiedades antimicrobianas de la leche materna y de vaca. Actualmente, se han realizado pocos estudios sobre este tema para determinar qué tan efectivos son los agentes antibacterianos(3)

Es así que el *Lactobacillus reuteri*, aislado de diferentes productos puede tener uso clínico, pero se necesitan estudios preliminares in vitro para justificar futuras aplicaciones de este tipo.

Siendo la razón principal para realizar este estudio, los casi nulos estudios similares y comparables, ya que existen pocos antecedentes de investigación destacables. Por lo tanto, los equipos de laboratorio biológico de la UNAP son parte de la investigación, así como la correcta manipulación está garantizada la calidad y viabilidad durante la ejecución del presente trabajo.



1.4. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1. Hipótesis General

El *Lactobacillus reuteri* aislada del BioGaia, leche materna humana y de vaca posee actividad inhibitoria frente a las cepas del *Streptococcus mutans*.

1.4.2. Hipótesis Específicas

- Existe actividad inhibitoria de *Lactobacillus reuteri* aislada del BioGaia (DSM 17938), en las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% frente a cepas del *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas.
- Existe actividad inhibitoria de *Lactobacillus reuteri* aislada de la leche materna humana, en las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% frente a cepas del *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas.
- Existe actividad inhibitoria de *Lactobacillus reuteri* aislada de la leche de vaca en las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% frente a cepas del *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas.
- Existe mejor actividad inhibitoria de uno de los probióticos de *Lactobacillus reuteri* aislada del BioGaia (DSM 17938), de la leche materna humana y de vaca en las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% frente a cepas del *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas.



1.5. OBJETIVOS

1.5.1. Objetivo General

Determinar la actividad inhibitoria del *Lactobacillus reuteri* aislada del BioGaia (DSM 17938), leche materna humana y leche de vaca frente a cepas del *Streptococcus mutans* Puno 2023.

1.5.2. Objetivos Específicos

- Determinar la actividad inhibitoria de *Lactobacillus reuteri* aislada del BioGaia (DSM 17938), en concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% frente a cepas del *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas.
- Determinar la actividad inhibitoria de *Lactobacillus reuteri* aislada de la leche materna humana, en concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% frente a cepas del *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas.
- Determinar la actividad inhibitoria de *Lactobacillus reuteri* aislada de la leche de vaca, en concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% frente a cepas del *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas.
- Determinar la mejor actividad inhibitoria de uno de los probióticos del *Lactobacillus reuteri* aislada BioGaia (DSM 17938), de la leche materna humana y de vaca, en concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% frente a cepas del *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas.



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

2.1.1. Antecedentes Internacionales

Hernández J., Zuluaga R. (2020). Colombia. Capacidad antimicrobiana de la leche bovina, caprina y humana con énfasis en *Staphylococcus aureus* y *E. coli*.

El objetivo de los estudios que se describen a continuación fue identificar las proteínas que confieren propiedades antimicrobianas a la leche humana, de cabra y de vaca frente a microorganismos como *Staphylococcus aureus* y *E. coli*, que se encuentran entre la práctica clínica y la disponibilidad diaria de veterinarios y humanos. Muchos estudios han demostrado que la leche materna madura de diversas especies es un producto bacteriano porque contiene varios componentes como β -caseína, α -caseína S2, k-caseína, α -caseína S1, inmunoglobulinas y proteína lactoférrica. Las proteínas de la leche son un tema de investigación importante porque se utilizan como agente antimicrobiano contra diversos microorganismos. Es necesario e importante promover la investigación sobre el uso de estos péptidos derivados de las proteínas de la leche para producir antibióticos para el tratamiento de enfermedades causadas por bacterias patógenas. La identificación precisa de péptidos individuales supondría una contribución significativa a la ciencia de la salud humana y animal. (3)



Parra Y. (2020) Paraguay. Aislamiento de bacterias ácido lácticas obtenidas de leche y queso Paraguay.

El propósito de este estudio fue identificar bacterias ácido lácticas en leche cruda y quesos de Paraguay. Para ello, se aislaron e identificaron bacterias lácticas a partir de estas matrices alimentarias y se determinaron sus actividades antagónicas frente a patógenos y productos de degradación de alimentos de referencia. En este estudio se aislaron e identificaron 7 cepas de leche cruda de vacas lecheras domésticas y 5 cepas de queso. Los resultados obtenidos en este estudio sobre las propiedades antagonistas de las bacterias del ácido láctico aisladas en este estudio contra patógenos humanos ayudan a confirmar que las bacterias ácido lácticas identificadas tienen la capacidad de inhibir los patógenos y el deterioro de los alimentos. Las bacterias ácido lácticas aisladas fueron *Lactobacillus* especie *plantarum*, *fermentum*, *rhamnosus* y *amylovorus* y *Enterococcus faecium*. Los resultados obtenidos en este trabajo son, por tanto, importantes porque abren líneas de investigación hasta ahora incipientes en Paraguay relacionadas con la producción de probióticos, cultivos iniciadores de fermentación y conservantes en biología de los alimentos(10)

Tavella V., Luo X. (2018) Blacksburg - EE.UU. Role of *Lactobacillus reuteri* in human health and diseases.

En un estudio de 2018 realizado en el Departamento de Biomedicina y Patobiología de EE. UU.; Se ha demostrado que *Lactobacillus reuteri* promueve sus funciones prebióticas, lo que puede ser útil como una estrategia nueva y relativamente segura contra enfermedades inflamatorias infectadas. *Lactobacillus reuteri* es una bacteria probiótica bien estudiada con la capacidad de colonizar



muchas especies de mamíferos. *Lactobacillus reuteri* produce ácidos orgánicos, etanol y moléculas antibacterianas como la reuterina. Debido a su actividad antimicrobiana, este género juega un papel importante en la fermentación de alimentos y también está presente en el sistema digestivo de humanos y animales en cantidades variables según la especie y la edad del huésped y la ubicación en el intestino. Promoción de la actividad probiótica como una nueva estrategia relativamente segura ante la presencia de *Lactobacillus reuteri* y/o enfermedades inflamatorias(11)

Bravo J. Morales A. Lefimil C. Galaz C. (2018) Chile. Efectos clínicos de *Lactobacillus reuteri* en el tratamiento de la gingivitis.

El objetivo de su estudio fue evaluar la eficacia de *Lactobacillus reuteri* como tratamiento complementario para la gingivitis. Realizaron un ensayo clínico aleatorizado y controlado con placebo de 3 meses de duración sobre la gingivitis. El grupo de prueba tomó una tableta por día de la cepa probiótica *Lactobacillus reuteri* (una dosis de 2×10^8 UFC por día), y el grupo de control tomó la misma tableta, pero sin bacterias vivas. La variable de resultado primaria fue el índice gingival (IG) y las variables de resultado secundarias fueron el índice de placa (IP) y el índice de sangrado al sondaje (IS). Se realizaron comparaciones dentro y entre grupos al inicio y al final de la intervención (3 meses). En conclusión, el uso de comprimidos probióticos que contengan *Lactobacillus reuteri* como complemento al tratamiento de la gingivitis puede reducir significativamente el número de zonas más inflamadas(12).



Wasfi R., Zafer M., Ashour H. (2018) Cairo - Egipto. Probiotic Lactobacillus sp. inhibit growth, biofilm formation and gene expression of caries-inducing Streptococcus mutans.

Según los estudios de diseño experimental han demostrado que *Streptococcus mutans* contribuye significativamente a la caries dental debido al desequilibrio homeostático entre el huésped y la microbiota, especialmente el género *Lactobacillus spp*, inhibe el crecimiento, la formación de biopelículas y la expresión genética de *Streptococcus mutans*. Las investigaciones muestran que *Lactobacillus spp*. Puede inhibir y controlar las caries. Este posible efecto anticaries puede deberse a: 1. El efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* se debe principalmente a la producción de ácidos orgánicos y producción de peróxido; 2. Adhesión celular reducida y biopelícula preformada; 3 Regulación negativa de varios genes de virulencia de *Streptococcus mutans*, incluidos los genes de tolerancia ácida(2)

Lin X., Chen X., Wang S. (2017) Zhejiang - China. Effect of probiotic lactobacilli on the growth of streptococcus mutans and multispecies biofilms isolated from children with active.

El objetivo de su estudio piloto realizado en 2017 fue evaluar los efectos de las bacterias ácido lácticas probióticas sobre *Streptococcus mutans* (MS) y biopelículas multiespecies aisladas de niños con caries dental grave. Las cepas de MS se mezclaron con bacterias de ácido láctico a 37°C y luego se contaron las colonias de MS viables. Al mismo tiempo, se mezcló la placa dental de los niños con bacterias del ácido láctico in vitro para formar biopelículas y, después de 24 horas de crecimiento, se contó el número 9 cepas bacterianas comunes en las



biopelículas. Cuatro cepas de bacterias *Lactobacillus casei* (ATCC 393), *Lactobacillus reuteri* (ATCC 23272), *Lactobacillus plantarum* (ATCC 14917) o *Lactobacillus salivarius* (ATCC 11741) del ácido láctico lograron inhibir el crecimiento de *Streptococcus mutans* in vitro e influir en la composición de las biopelículas bacterianas. Tomar probióticos puede ser una forma prometedora de prevenir las caries(13)

Álvarez B., Aguilar S., Cabrera R., Pérez K. (2017) Guatemala.

Eficacia de la leche materna como inhibidor in vitro de bacterias

Estudiaron la eficacia de la leche materna para inhibir el crecimiento de agentes infecciosos (*E. coli*, *Streptococcus*) in vitro. *Staphylococcus aureus*, *Neisseria gonorrhoeae*, en el laboratorio clínico del Centro de Investigaciones Biomédicas de la Facultad de Medicina se recolectaron veinte muestras de calostro y 20 muestras de leche madura, 10 de las cuales fueron del banco de leche humana y 10 de mama. Independientemente de la etapa de maduración, la leche humana in vitro tuvo un efecto inhibitor sobre *N. Gonorrea*, *S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *E. coli. gonorrea, S. aureus, S.pneumoniae y E.coli*(14).

Castañón M., De la Garza M., Cárdenas E., Sánchez R. (2014) New York – EE.UU. Antimicrobial Effect of *Lactobacillus reuteri* on Cariogenic Bacteria *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus mutans*, and Periodontal Diseases *Actinomyces naeslundii* and *Tannerella forsythia*.

En su estudio probaron y compararon la actividad antimicrobiana in vitro de *Lactobacillus reuteri* frente a bacterias cariogénicas (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus spp, gordonii A. naeslundii* y *T. Forsitia*). Establecieron las



condiciones para un buen crecimiento de las células seleccionadas en función de los requisitos metabólicos de cada patógeno seleccionado, el crecimiento exponencial alcanza un máximo, que es el punto de referencia para el análisis del crecimiento o inhibición de las bacterias ácido lácticas utilizando el método de Kirby-Bauer. Se utilizó clorhexidina al 0,12% como control positivo. *Lactobacillus reuteri* mostró actividad contra *Streptococcus mutans* seguido de *Lactobacillus reuteri. forsythia* y *S. gordonii* y actividad menos significativa contra *A. naeslundii*. Para prevenir la enfermedad periodontal, es importante controlar la colonización de la cavidad bucal con bacterias patógenas. Las investigaciones relacionadas se han centrado principalmente en una clase de microorganismos no patógenos llamados probióticos, de los cuales los *Lactobacillus* grampositivos son los candidatos más prometedores(6)

Zalba J, Flichy A. (2013) España. Empleo de probióticos en odontología.

A pesar del uso generalizado de cepillos de dientes, pasta de dientes y otras medidas preventivas (selladores dentales, hilo dental, medidas preventivas profesionales), las enfermedades bucales como las caries o los problemas de las encías afectan a la mayor parte de la población mundial. Los microorganismos probióticos pueden jugar un papel importante en la salud bucal si son capaces de incorporarse a la película adquirida y crecer junto al microbiota autóctono de la placa bacteriana o biofilm, a la vez que disminuyan la colonización de microorganismos patógenos, además de poder estimular una respuesta positiva del sistema inmunológico, éstos tendrían alguna efectividad clínica en la prevención de las enfermedades más comunes de la cavidad oral(15)



Antecedentes Nacionales

Castañeda S. (2021) Ica - Perú. Efecto de diferentes leches de alimentación infantil en el crecimiento de *Streptococcus mutans* en el biofilm

Un estudio de diseño experimental para evaluar y comparar la bioacumulación de *Streptococcus mutans* UA159 en diversas fórmulas infantiles, incluyendo leche materna, leche de vaca y fórmulas infantiles. La formación de biopelículas se incubó con *Streptococcus mutans* cepa UA159 y CO₂ al 10% durante 18 h. en una placa de 96 pocillos con caldo de infusión cerebro corazón (BHI) que contiene 1 % de sacarosa para el control positivo y sin sacarosa para el control negativo. Como resultado, la leche humana produjo un 29,60% menos de biopelícula y un 24,01% menos de leche de vaca que su grupo de control positivo. Para las fórmulas infantiles analizadas no se encontraron diferencias significativas en el desarrollo de biofilm(16)

García A. (2021) Piura – Perú. Actividad antibacteriana de los probióticos contra bacterias cariogénicas

El objetivo fue realizar una revisión sistemática de la literatura científica disponible sobre probióticos contra bacterias cariogénicas. Es una forma de estudio de la crítica de libros. Se realizaron búsquedas específicas en Medline (Pubmed), Science Direct, Springer, Scielo, Research Gate y Semantic. La población es de 16.014 artículos publicados en los últimos siete años (2015-2021). Utilizando los criterios de inclusión y exclusión, se seleccionaron como muestra 70 artículos. Como resultado, las bacterias carioxénicas más estudiadas son *Streptococcus mutans*, *S. sobrinus* y *Lactobacillus spp.* En el caso de los probióticos, *L. salivarius*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *L. casei*, *L. brevis* y *L.*



paracasei. Los efectos antibacterianos han sido ampliamente publicitados. Los estudios in vivo son principalmente estudios experimentales. Concluimos que cada vez hay más investigaciones sobre el potencial antibacteriano de los probióticos contra importantes bacterias cariogénicas para su uso como bioterapéuticos(17)

Apaza D. (2016) Arequipa – Perú. Estudio in vitro del Efecto Inhibitorio de un Bioyogurt con Cepas Probióticas: *L. Reuteri*, *L. Rhamnosus*, *L. Johnsonii*, sobre el crecimiento del *Porphyromona Gingivalis*, en los laboratorios de la UCSM, Arequipa 2016.

El principal objetivo de este estudio fue determinar el potencial inhibidor in vitro del bioyogurt que contiene cepas probióticas de *Lactobacillus Reuteri*, *Lactobacillus Rhamnosus* y *Lactobacillus Johnsonii* sobre el crecimiento de *Porphyromona gingivalis*. Se pueden utilizar cepas válidas de *Porphyromona gingivalis* para realizar este estudio. Se centra en la investigación experimental, exploratoria, transversal, comparada y experimental. Preparó medios de cultivo de agar Rogosa, caldo de tioglicolato y agar sangre y activó la cepa ATCC. Durante la activación, las bacterias quedan encerradas en placas de Petri. Cada ciclo contiene un disco que contiene el inhibidor del bioyogurt y *Lactobacillus Reuteri*, *Rhamnosus* y *Johnsonii* utilizando el método de Kirby-Bauer o discos de difusión, luego de lo cual se colocaron en una cámara anaeróbica a 37°C y 10% de CO₂ durante 24 horas, se leyeron las placas de estas tres cepas se observa un mayor halo de inhibición para la cepa *L. Rhamnosus* (11.33 mm), le sigue el *L. Reuteri* (9.25 mm) y el de menor efecto antibacteriano es el *L. Johnsonii* (7.42 mm)(18)



Antecedentes Locales

Ancco P. (2023) Puno – Perú. El objetivo del estudio fue determinar el efecto antibacteriano de *Lactobacillus plantarum* contra cepas de *Streptococcus mutans*. Se incubaron treinta placas Petri y se dividieron en 6 placas de difusión (réplicas), o 180 placas Petri, cada una dividida en cuatro grupos bacterianos. De acuerdo a la concentración de caldo de fermentación de *Lactobacillus plantarum* del 25%, 50%, 75% y 100%, la carga bacteriana se diluyó hasta una turbiedad de 0.1 mediante el método de Mac-Farlan y la reducción observada se determinó mediante el método de Kirby-Bauer. Se midió el efecto de sensibilización teniendo como resultado el 0,12%. De la cual determinó que el fermento de *Lactobacillus plantarum* posee efecto antimicrobiano sobre el *Streptococcus mutans*(19)

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. Probióticos

El término probiótico se deriva de la palabra griega que significa "apoyar o promover la vida"(5)

Ahora, después de numerosas redefiniciones, la FAO/OMS (2001) define los probióticos como “microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades apropiadas, tienen efectos beneficiosos sobre la salud del huésped”. El acrónimo "GRAS" (comúnmente denominado "reconocido como seguro" se define como seguro)(5)

2.2.1.1. Efecto Sistémico



Los beneficios potenciales de los probióticos se han estudiado en una variedad de enfermedades y afecciones sistémicas, incluidas enfermedades gastrointestinales y ginecológicas, edema atópico y alergias en niños(5)

2.2.1.2. Enfermedades sistémicas donde el tratamiento de probióticos tuvo éxito.

Los probióticos han demostrado los claros beneficios de las bacterias comensales intestinales al demostrar efectos beneficiosos contra enfermedades específicas. Observaciones relevantes en sujetos con microbiota intestinal en comparación con sujetos sanos, como:

- Diarrea Aguda
- Infecciones Urogenitales
- Colitis
- Artritis Reumatoides
- Colon Irritable, Etc(5).

2.2.1.3. Probióticos en Odontología

Los probióticos han sido ampliamente estudiados para la promoción de la salud. En general, los probióticos promueven la salud eliminando patógenos de forma competitiva o activa. Los estudios sobre el uso de probióticos en la cavidad bucal para controlar y/o prevenir infecciones bucales en humanos han demostrado que compiten por sitios en la cavidad bucal, inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos y tienen el potencial de persistir en la cavidad bucal. No sólo necesitamos bacterias altamente resistentes, sino que también tengan un impacto



positivo en la respuesta del sistema inmunológico. Actualmente existen probióticos dentales, productos de higiene bucal que combaten la placa, la gingivitis y las bacterias cariogénicas mediante una combinación patentada de dos cepas de *Lactobacillus reuteri*(15)

2.2.2. *Lactobacillus Reuteri*

Las bacterias Gram-positivas están presentes de forma natural en los intestinos de mamíferos y aves, diferentes cepas de *Lactobacillus reuteri* se describió por primera vez en la década de 1980 y se ha utilizado como probiótico. Tiene varios efectos positivos sobre la salud del huésped, incluida la prevención y mejora de diversas enfermedades. Se caracteriza por ser una especie hetero fermentativa que crece en atmósferas pobres en oxígeno y coloniza el tracto gastrointestinal de humanos y animales. Se ha demostrado que este microorganismo puede tolerar una amplia gama de entornos de pH, utilizar múltiples mecanismos para inhibir con éxito los microorganismos patógenos y secretar intermediarios antimicrobianos. Además, algunos estudios han demostrado que *Lactobacillus reuteri* también tiene propiedades anti fúngicas y secreta metabolitos que contienen componentes antivirales(11)

Lactobacillus reuteri es un hetero fermentante presente en el tracto gastrointestinal humano y es capaz de producir compuestos con efectos antagonistas como la reuterina y la reuteciclina. son antibióticos solubles en agua de amplio espectro que son eficaces en un amplio rango de pH y resistentes a las enzimas proteolíticas. La producción de cepas de *Lactobacillus reuteri* tiene un efecto inhibitor sobre las bacterias(11).



- Gram-Positivas como: *bacillus cereus*, *staphylococcus aureus* y *listeria monocytogenes*.
- Gram-Negativas como: *E. coli*, *yersinia enterocolitica* y *pseudomonas fluorescens*(11).

2.2.2.1. Taxonomía del *Lactobacillus reuteri*.

- **Dominio:** Bacteria
- **Filo:** Firmicutes
- **Clase:** *Bacilli*
- **Orden:** *Lactobacillales*
- **Familia:** *Lactobacillaceae*
- **Género:** *Limosilactobacillus*
- **Especie:** *Lactobacillus reuteri*

2.2.2.2. Propiedades Probióticas del *Lactobacillus reuteri*

Para convertirse en un probiótico potencial, existen varios requisitos, como la supervivencia en un entorno de pH bajo debido a las enzimas, la adhesión al epitelio para la interacción del probiótico con el huésped, la competencia con microorganismos patógenos y, lo más importante, la seguridad. *Lactobacillus reuteri* cumple todos estos requisitos. Se argumenta que contribuyen a la prevención y/o mejora de la salud y la enfermedad del huésped a través de sus diversos efectos beneficiosos(11)

2.2.2.3. Componentes del *Lactobacillus reuteri*



Reuterina: Las cepas de *Lactobacillus reuteri* de origen humano puede producir y excretar reuterina, un conocido compuesto antimicrobiano. Además de la reuterina, algunas sustancias antimicrobianas como el ácido láctico, el ácido acético, el etanol y la reutericlina(11)

Histamina: Algunas cepas de *Lactobacillus reuteri* pueden convertir el aminoácido histidina, un ingrediente alimentario, en la amina biogénica histamina. La bacteria comensal humana *Lactobacillus reuteri* 6475 se utilizó como cepa modelo para estudiar la histamina en *Lactobacillus reuteri*(11)

Vitamina: *Lactobacillus reuteri* tiene la capacidad de producir varios tipos de vitaminas, incluida la vitamina B12 (cobalamina) y B9 (ácido fólico). Entre estas cepas de *Lactobacillus reuteri*, CRL1098 y *Lactobacillus reuteri* JCM1112 son las más estudiadas. En un estudio, la administración de *Lactobacillus reuteri* demostró que una dieta deficiente en CRL1098 y vitamina B12 mejoraba la condición de las mujeres embarazadas con deficiencia de B12(11)

2.2.3. *Lactobacillus Reuteri* del BioGaia (DSM 17938)

Lactobacillus reuteri DSM 17938 (LR 17938) es una cepa probiótica derivada de *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730. Esta última cepa se aisló originalmente de la leche materna de una madre peruana, pero luego se descubrió que portaba dos genes de resistencia a antibióticos transmitidos por plásmidos. Se ha demostrado que *Lactobacillus reuteri* 17938 inhibe el crecimiento de



patógenos, modula el sistema inmunológico y tiene potentes efectos antiinflamatorios(7)

Lactobacillus reuteri protectis también tiene beneficios para la salud bucal. Algunos estudios han demostrado que esta cepa puede ayudar a prevenir la formación de placa y caries y reducir la inflamación de las encías. En enfermedades inflamatorias orales, la administración de *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 y ATCC PTA. 5289 se asocia con una reducción de la inflamación gingival y menos patógenos asociados con la periodontitis. Al mantener el equilibrio del microbioma del huésped en el entorno bucal, las cepas de *Lactobacillus. reuteri* modulan la respuesta inflamatoria del huésped, eliminan las bacterias patógenas y previenen la disbiosis de microbiota intestinal (7).

2.2.4. Leche Materna Humana

La leche humana es un líquido recombinante compuesto de proteínas, minerales, lípidos, carbohidratos, vitaminas y factores inmunológicos. Se pueden distinguir tres tipos diferentes: calostro, leche de transición y leche madura. La leche materna actúa como una herramienta importante en la prevención de infecciones neonatales debido a su actividad antimicrobiana debido a componentes humorales y celulares adicionales del sistema inmunológico neonatal (3).

La leche materna humana proporciona nutrientes críticos y compuestos bioactivos que apoyan el crecimiento y el desarrollo inmunológico durante la infancia. La variación en los componentes de la leche y los compuestos bioactivos como resultado de factores demográficos y genéticos, el estilo de vida materno y las exposiciones pueden tener efectos tanto positivos como negativos (8).



Varios factores en la leche materna humana juegan un papel importante en la modulación del sistema inmunológico, incluyendo IgA, lactoferrina, β -lactoglobulina y α -lactoglobulina, factor de crecimiento epidérmico y bacterias vivas, entre los que se encuentran los lactobacilos y bifidobacterias(7).

2.2.4.1. Componentes de la leche materna

Lisozima: Una enzima rompe la pared exterior. Su capacidad para destruir bacterias Gram negativas ha sido probada in vitro. Tiene un efecto sinérgico con la lactoferrina. La lactoferrina se une a la membrana de lipopolisacárido de la bacteria, ingresa a la lisozima, elimina y destruye la matriz interna de proteoglicanos(20).

Lactoferrina: Tiene acción bacteriostática; dado que el hierro está presente en el sistema digestivo del bebé, este método previene el crecimiento de diversos patógenos. Además de los efectos sinérgicos con la lisozima mencionados anteriormente, también tiene muchos efectos citotóxicos. Combate bacterias, virus y hongos. En algunos casos se ha demostrado actividad antiinflamatoria. (20).

Lactoperoxidasa: Cataliza la oxidación de los tiocianatos en la saliva, formando un compuesto que puede destruir bacterias tanto grampositivas como gramnegativas (20).

A-Lactoalbúmina: Se ha demostrado actividad antibacteriana contra *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* y *Candida albicans*. Contiene muchos componentes proteicos(20).

Inmunoglobulinas: Se encuentra en el suero de la madre. La recaudación es muy numerosa el primer día de nacimiento (correspondiente a la producción



de calostro). La cantidad de inmunoglobulinas disminuye durante varios meses. Por un lado, debido a la pérdida de recién nacidos debido al envejecimiento, y por otro, la disminución de la permeabilidad hace que los intestinos no puedan absorber suficientes proteínas(20).

Citocinas: Los estudios han demostrado que las citocinas de la leche materna son inmuno estimuladores e inmunomoduladores de fagocitos y linfocitos, que participan en el desarrollo de respuestas inmunitarias específicas en el niño. Ciertas citocinas, como la IL-6 y el TNF- α , están asociadas con la regulación y el desarrollo de la glándula mamaria. Otros, como la IL-1, afectan la producción de IgA. Por otro lado, la IL-10 y el TGF-b tienen un importante papel inmunomodulador, incluida la estimulación del crecimiento intestinal, la producción de inmunoglobulina intramamaria y la estimulación de la mucosa oral(20).

Se ha demostrado que la leche materna humana afecta a diversos agentes infecciosos in vitro, como

- *E.coli*,
- *Clostridiumtetani*,
- *Corynebacterium diphtheriae*,
- *Klebsiella pneumoniae*,
- *Salmonella*
- *Shigella*,
- *Streptococcus*,
- *Streptococcus mutans*,
- *Streptococcus sanguis*,
- *Streptococcus salivarius*,



- *S. pneumoniae*,
- *Haemophilus*.
- *influenzae*entre otros(3)

2.2.4.2. Uso de la leche como antibiótico

Varios estudios han documentado principalmente los resultados del uso de péptidos aisladas de las proteínas de la leche: caseína, lactoferrina y lactoalbúmina como potentes agentes antimicrobianos biológicos que tienen un efecto positivo en la prevención del crecimiento bacteriano y la destrucción de las membranas externas de bacterias como *S. aureus*. y *E. coli*, aunque el efecto también se observó en diferentes tipos de bacterias. Las secuencias de proteínas de la leche pueden aumentar el nivel de actividad antimicrobiana liberando factores durante su hidrólisis enzimática. Las investigaciones han aislado una gran cantidad de proteínas y péptidos antimicrobianos de la leche de diversos organismos y especies(3)

Las secuencias de proteínas de la leche pueden aumentar el nivel de actividad antimicrobiana liberando factores durante su hidrólisis enzimática. Las investigaciones han aislado una gran cantidad de proteínas y péptidos antimicrobianos de la leche de diversos organismos y especies. La composición de macronutrientes de la leche se divide en proteínas, grasas y lactosa. Las proteínas más comunes son la caseína, la alfa lactalbúmina, la lactoferrina, la inmunoglobulina secretora IgA, la lisozima y la albúmina sérica(3).



2.2.5. Leche De Vaca

La leche de vaca contiene agua, grasas, proteínas, lactosa, vitaminas, minerales. El contenido de proteínas del ganado vacuno es del 3,5% dividido por el 80%. 20% de las proteínas séricas (albúmina, globulina) en caseínas (α -, β - y kapa-caseínas). El valor biológico de la caseína depende de los aminoácidos esenciales que contiene. Contiene 0,5% de albúmina. globulina Las proteínas séricas de alto peso molecular más variables. Durante la lactancia, varía del 9% al 16%. Proteínas totales de la leche(3)

2.2.6. Microbiota de la Cavidad Oral

El microbiota oral fue el primer ecosistema microbiano descrito por el holandés Antón van Leeuwenhoek en 1863. Fue el primero en observar la biopelícula oral y llamó a estos microorganismos rincones animales. Luego, en 1924, J. Clarke aisló el organismo de la caries. de las lesiones y por la característica forma ovalada y mutante, lo llamo *Streptococcus mutans*. Sin embargo, a mediados de la década de 1960, estudios clínicos y de laboratorio en animales describieron a *Streptococcus mutans* como un importante agente etiológico de la caries dental. Las bacterias orales pertenecen a una comunidad compleja con muchas especies involucradas en la formación de biopelículas, incluidas todas sus funciones, interacciones y características. Los conceptos actuales investigan la asociación y herencia de diferentes microorganismos en superficies abióticas o bióticas. En la cavidad bucal existen superficies duras y blandas que favorecen la formación de una biopelícula en el caso de bacteriosis comensal que provoca caries. Uno de los culpables es *Streptococcus mutans*(16)



2.2.6.1. Disbiosis en el microbiota de la cavidad oral.

Los microorganismos de la cavidad bucal se mantienen en equilibrio para mantener un ecosistema bucal saludable (simbiosis). Cada persona tiene un microbiota personal, que suele estar relacionada con hábitos alimentarios, higiene bucal, estilo de vida y otros factores que mantienen el equilibrio constante de la cavidad. Así, existen muchos factores asociados a los malos hábitos: por ejemplo, el consumo de tabaco, el alcohol, los trastornos alimentarios, el estrés, el desequilibrio hormonal, la pubertad, el embarazo, la mala higiene bucal, la diabetes, las enfermedades crónicas y las enfermedades autoinmunes. Perturban el equilibrio de la comunidad microbiana, provocando un desequilibrio (disbiosis) en todos los nichos de la cavidad bucal. Por lo tanto, la ingesta excesiva de carbohidratos combinada con una mala higiene favorece el crecimiento de *Streptococcus mutans* en las superficies de los dientes, lo que lleva a disbiosis y posterior formación de biopelículas cariogénicas(16)

2.2.7. *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans es una bacteria grampositiva. En 1924, J. Clarke aisló el organismo de las lesiones de caries y lo llamó *Streptococcus mutans*, porque creía que las células de forma ovalada observadas eran formas mutantes de *Streptococcus*. Sin embargo, a finales de la década de 1950, *Streptococcus mutans* ganó amplia atención en la comunidad científica y, a mediados de la década de 1960, estudios de laboratorio clínico y en animales describieron a *Streptococcus mutans* como un importante agente etiológico de la caries. El hábitat natural de *Streptococcus mutans* es la cavidad bucal humana, más precisamente la placa, la diversa biopelícula que se forma en las superficies duras



del diente. Está ampliamente aceptado que el potencial cariogénico de *Streptococcus mutans* reside en tres características principales (4).

2.2.7.1. Taxonomía del *Streptococcus Mutans*

- **Dominio:** Bacteria
- **Filo:** Firmicutes
- **Clase:** Basilli
- **Orden:** Lactobacillales
- **Familia:** Streptococaceae
- **Género:** *Streptococcus*
- **Especie:** *mutans*

2.2.8. Caries dental

La caries dental se consideraba tradicionalmente una enfermedad infecciosa causada por determinados microorganismos. Según Black, es necesario "eliminar las bacterias cariogénicas del tejido dental enfermo y luego completarlo con una restauración". Este principio es incompatible con la comprensión actual de la caries dental: "una enfermedad resultante de un desequilibrio ecológico (disbiosis) debido a un aumento en el consumo de carbohidratos fermentables, que provoca un desequilibrio en la composición y actividad de la biopelícula y ácidos bacterianos causados por la pérdida de minerales, en otras palabras, se relaciona con el crecimiento de biopelículas microbianas en la superficie del diente causado por la dieta de sacarosa(9)



El proceso de caries es una secuencia dinámica de interacciones entre el diente y la biopelícula de la superficie del diente. Este proceso provoca un desequilibrio entre los factores protectores (remineralización) y los factores destructivos (desmineralización) que promueven la desmineralización de la superficie del diente. Este proceso puede detenerse en cualquier momento. Cuando se daña el tejido dental, se distingue una lesión cariosa activa de una caries inactiva; si está activo, se desmineraliza con el tiempo, es decir, la lesión progresa. Nyvad y Ekstrand propusieron criterios para distinguir una lesión cariosa activa de una caries inactiva: apariencia visual, sensibilidad táctil y acumulación de placa. Cuando la lesión cariosa está activa, la superficie se vuelve amarillenta o blanca, opaca y se siente áspera al examen y puede estar cubierta con una placa gruesa y luego la dentina es blanda al examen. El daño se localiza en la zona de retención: fisuras y fisuras, cerca del margen gingival, hasta el punto de contacto con el ápice. Cuando se detiene la lesión cariosa, la desmineralización no progresa, la superficie del esmalte es de color oscuro, pero la superficie es brillante, parece dura y lisa cuando se examina. En superficies libres, el daño se localiza lejos de la línea de las encías. La dentina es brillante, difícil de presionar(9)

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN GEOGRAFÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.1. Ámbito General

El departamento de Puno está ubicada a orillas del lago Titicaca en el sureste del Perú, al oeste del meridiano de Greenwich entre los 13°00'00" y 17°17'30" de latitud sur y los 71°06'57" y 68°48'46" oeste; su superficie es de 71.999,0 kilómetros cuadrados, lo que la convierte en la quinta provincia más grande del país. Limita al norte con la Región Madre de Dios, al este con el Estado de Bolivia, al sur con el Región Tacna y el Estado de Bolivia, y al oeste con las regiones Moquegua, Arequipa y Cusco(21)

Figura 1

Ubicación



Nota: <https://www.bcrp.gob.pe/docs/Sucursales/Puno/puno-caracterizacion.pdf>



3.1.2. **Ámbito Específico**

Laboratorio de Microbiología y Parasitología, área de Medicina Humana,
Ciencias Biomédicas, Universidad Nacional, Altiplano Puno 2023

3.2. **PERIODO Y DURACIÓN DEL ESTUDIO**

Este estudio titulado “Actividad Inhibitoria in vitro del *Lactobacillus reuteri* aisladas del BioGaia (DSM 17938), leche materna humana y de vaca frente a las cepas del *Streptococcus mutans* Puno 2023”. Fue realizada desde el primer día de julio hasta la última semana de agosto del año 2023 con una duración de dos meses.

3.3. **TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

Según el nivel de investigación: Explicativo porque se buscaron las razones del evento con base en relaciones causales.

Según el diseño de investigación: Experimental mediante control intencional de variables independientes.

Según la cronología de la investigación: Sección longitudinal para la cual se realizaron múltiples mediciones en la muestra.

Según el número de investigación: Prospectivo, porque la recolección se realizó una vez aceptado el proyecto.



3.4. POBLACIÓN Y MUESTRA DE ESTUDIO

3.4.1. Población

Se ha documentado el preciso aislamiento de cepas de *Streptococcus mutans* por parte del biólogo del laboratorio de Microbiología y Parasitología FMH-UNA PUNO.

3.4.2. Muestra

Utilizando un método de muestreo no aleatorio utilizando criterios de inclusión y exclusión, las cepas se cultivaron en 24 placas Petri, 8 discos de dispersión y 192 pocillos, divididos en cuatro grupos con diferentes porcentajes al 25%, 50%, 75% y 100%.

3.4.3. Criterios de selección

Criterios de inclusión

- Placas en las que se inoculó directamente *Streptococcus mutans*
- Microorganismos que cumplan con todas las características microscópicas y macroscópicas.
- Microorganismos que cumplan con las pruebas bioquímicas.
- Medios de cultivo previamente esterilizados no contaminados.
- La placa de Petri ha sido revisada en su totalidad y no ha sido modificada.
- Cepas de *Streptococcus mutans* no contaminada.

Criterios de exclusión

- Placas contaminadas



- Microorganismos que no cumplan con todas las características microscópicas y macroscópicas.
- Microorganismos que no cumplan con las pruebas bioquímicas.
- Medios de cultivo contaminados.
- Placas Petri que presenten contaminación previa o que estén sin ser verificadas.
- Cepas de *Streptococcus mutans* contaminadas.

3.5. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla 1

Operacionalización de variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	INDICADOR	SUB INDICADOR	ESCALA	
VARIABLE INDEPENDIENTE	<i>Lactobacillus reuteri</i> DSM 17938 (LR 17938) es una cepa				
	<i>Lactobacillus reuteri</i> del BioGaia (DSM 17938)	probiótica derivada de <i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC 55730. Esta última cepa se aisló originalmente de la leche materna de una madre peruana(7)	Concentraciones	25%	
	<i>Lactobacillus reuteri</i> de la leche materna humana	Humana es un líquido recombinante compuesto de proteínas, minerales, lípidos, carbohidratos, vitaminas y factores inmunológicos. Se pueden distinguir tres tipos diferentes: calostro, leche de transición y leche madura(7)		50%	ml
	<i>Lactobacillus reuteri</i> de la leche de vaca	La leche de vaca es está compuesta por: agua, grasa, proteínas, lactosa, vitaminas y minerales(3)		75%	
		100%			
VARIABLE DEPENDIENTE	<i>Streptococcus mutans</i> es una bacteria Gram-positiva que, como su nombre indica, tiene una morfología globular (cadena de coco). Esta bacteria está directamente implicada en la caries debido a su capacidad acidogénica y acidurítica(4)	Tamaños de halos de inhibición de <i>Streptococcus mutans</i>	Halos de inhibición	mm	
VARIABLE INTERVINIENTE	tiempo	Transcurso del tiempo en el proceso de la investigación.	Horas	24 horas 48 horas	Horas

Nota: elaboración de las investigadoras.



3.6. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.6.1. Técnicas

Se realizó una observación directa, mediante la medición del halo inhibitorio en (mm) con ayuda de la regla de vernier y regla metálica milimétrica, del resultado de las 24 placas Petri y en un total de 192 pozos o discos, dividido en 4 grupos de diferentes concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% de los diferentes

Los datos de *Lactobacillus reuteri* y *Streptococcus mutans* se registraron durante 24 a 48 horas mediante recopilación de datos virtual y física.

3.6.2. Procedimiento

3.6.2.1. Obtención de la Bacteria del *Lactobacillus reuteri* del BioGaia (DSM 17938) Protectis

Se obtuvo de una suspensión oral (BioGaia) que contiene al *Lactobacillus reuteri*, adquirido en una farmacia de la Ciudad de Juliaca, luego fue trasladado al área de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Humana, Universidad Nacional del Altiplano Puno 2023, para el aislamiento y réplica de los probióticos en mención.

3.6.2.2. Obtención de la Bacteria del *Lactobacillus reuteri* de la Leche Materna Humana.

Se identificó a una madre que da de lactar proveniente de la ciudad de Juliaca, con 27 años de edad, mestiza, de religión católica, madre primeriza, en proceso de lactancia final (Leche madura posterior). Es decir



que la etapa final de lactación se llama o es considerado leche madura, esta última está dividida en dos etapas la primera que es llamada leche de comienzo y la otra que es llamada leche posterior o final. Se le explicó el procedimiento, ella autorizó la donación de la leche con la firma del consentimiento informado

Se realizó la asepsia, con alcohol puro de 96° y gasa estéril para evitar contaminación del pezón de la madre, para la extracción de la leche materna en un matraz pequeño de 100 ml debidamente esterilizada.

El proceso se inició a las 7.00 am cuando la madre donante de la leche se encontraba en ayuno, una vez realizada el proceso de asepsia; con las medidas de bioseguridad tanto de la madre como el profesional se realiza la extracción de la leche de forma manual, para su posterior fermentación correspondiente de 4 días.

El volumen de leche extraída fue de 20 ml y se realizó para el aislamiento y replicación de bacterias ácido lácticas en el Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Humana, Universidad Nacional del Altiplano Puno, 2023.

3.6.2.3. Obtención de la Bacteria del *Lactobacillus reuteri* de la Leche de vaca.

La leche se obtuvo de la vaca de raza wagyu, en el departamento de Puno, distrito de Capachica; en proceso de producción de leche.

Se realizó la asepsia de la ubre y los pezones con alcohol de 96° con una gasa estéril durante un minuto.



Se ordeñó durante 5 minutos en un matraz estéril, obteniendo 30 ml de leche, posteriormente se selló herméticamente, conservando en un lugar fresco y seco.

Fue transportada a la ciudad de Juliaca, para su adecuada fermentación, después de 4 días se trasladó al Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano Puno, para el aislamiento y réplica del *Lactobacillus*.

3.6.2.4. Preparación Agar

- El agar *Lactobacillus* se preparó siguiendo las instrucciones del fabricante.
- Se mezcló agar *Lactobacillus* con agua destilada en un matraz Erlenmeyer limpio y estéril.
- Procesado en autoclave a 120°C y 35 libras por pulgada de presión durante 15 minutos.
- Cuando se retiró la solución agar de la autoclave, se esperó a que descendiera la temperatura a 45-50°C. El revestimiento se realizó a esta temperatura. Hacer lo mismo, verter en cinco placas petri, enfriar y gelificar a la temperatura adecuada.
- El recipiente que contenía la bacteria *Lactobacillus* se dividió en 5 placas Petri utilizando bastoncillos de algodón
- En una placa Petri se sembró el BioGaia mediante el goteo esparciéndolas con un hisopo estéril.



- En dos placas Petri se sembró el *Lactobacillus* de la leche materna humana mediante el barrido con un hisopo estéril para su incubación y crecimiento del probiótico *lactobacillus*.
- En dos placas Petri se sembró el *Lactobacillus* de la leche de vaca mediante el barrido con un hisopo estéril para el proceso de incubación y crecimiento del *Lactobacillus*.
- Se trasladó a una incubadora anaeróbica para su desarrollo de la bacteria a las 24 horas a una temperatura de 37 °C.

3.6.2.5. Elaboración de las concentraciones del *Lactobacillus reuteri* del BioGaia

- La carga se consideró constitucional.
- Las colonias desarrolladas en placas de Petri se diluyeron inmediatamente en tubos de ensayo con 5 ml de solución salina estéril. La concentración es del 100%.
- Para diluir al 75% de concentración se utilizaron 3,75 ml de la cepa disueltos en 1,25 ml de agua destilada.
- Para diluir al 50% de concentración se utilizaron 2,5 ml de la cepa diluidos en 2,5 ml de agua destilada.
- Para diluir al 25% de concentración utilizar 1,25 ml de la cepa diluida en 3,75 ml de agua destilada.



3.6.2.6. Elaboración de las concentraciones del *Lactobacillus reuteri* de la leche materna humana

- La carga se consideró constitucional.
- Colocar las colonias desarrolladas en la placa Petri, en un tubo de ensayo y se diluyen con 5 ml de solución salina estéril. ¿Cuál es la concentración del 100%?
- Para diluir al 75% de concentración se utilizaron 3,75 ml de la cepa disueltos en 1,25 ml de agua destilada.
- Para diluir al 50% de concentración se utilizaron 2,5 ml de la cepa diluidos en 2,5 ml de agua destilada.
- Para diluir al 25% de concentración utilizar 1,25 ml de la cepa diluida en 3,75 ml de agua destilada.

3.6.2.7. Elaboración de las concentraciones del *Lactobacillus reuteri* de la leche de vaca

- Identificado las cepas desde el punto de vista de la constitución del crecimiento.
- Las colonias desarrolladas en la placa de Petri se colocan en un tubo de ensayo y se diluyen con 5 ml de solución salina estéril. La concentración es del 100%.
- Para diluir al 75% de concentración se utilizaron 3,75 ml de la cepa disueltos en 1,25 ml de agua destilada.
- Para diluir al 50% de concentración se utilizaron 2,5 ml de la cepa diluidos en 2,5 ml de agua destilada.



- Para diluir al 25% de concentración utilizar 1,25 ml de la cepa diluida en 3,75 ml de agua destilada.

3.6.2.8. Preparación del agar Mueller Hinton sangre(18)

- Se seleccionó agar nutritivo y agua destilada.
- Las cantidades de ingredientes se calcularon según las instrucciones del fabricante.
- Mezclar con agua destilada en un recipiente, sellar con papel de aluminio y colocar en una autoclave.
- Se esterilizó en la autoclave a 121°C a 15 libras de presión/pulgada por 15 minutos.
- Después de retirar el envase, se debe enfriar a una temperatura de 45-50°C. Una vez alcanzada esta temperatura, agregue sangre hasta un 5% del total para igualar.
- Una vez mezclada la solución, se vertió uniformemente en 24 placas de Petri y se dejó gelificar a temperatura ambiente
- “Agar Base”:

$$500\text{gramos} \longrightarrow 12500\text{mililitros}$$

$$X \longrightarrow 300\text{mililitros}$$

$$X = 12 \text{ gramos}$$



3.6.2.9. Siembra de la muestra

- Se retiró con cuidado la tapa del tubo que contenía la muestra y se sumergió un hisopo estéril en la suspensión del microorganismo en estudio.
- Se colocó un hisopo estéril por encima del nivel de contenido del tubo y se giró contra la pared del tubo para eliminar el exceso de inóculo.
- El inóculo se extendió sobre la superficie del agar sangre en tres direcciones diferentes utilizando un hisopo estéril para evitar un inóculo demasiado concentrado o demasiado diluido.
- Se cerraron 24 placas Petri y se dejaron reposar de 5 a 20 minutos.

3.6.2.10. Aplicación de los discos por el método de Kirby Bauer(18)

- Se etiquetaron las placas de Petri por bacterias y concentración (100%, 75%, 50%, 25%) para su identificación.
- Se disponen ocho pocillos separados y paralelos, colocando discos de pequeño diámetro de papel de filtro muy limpio y estéril en pocillos (huecos)
- Luego, utilizando la pipeta preparada, se colocaron 10 μ l de diferentes *Lactobacillus reuteri* en diferentes concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) en pocillos pequeños con papel de filtro sobre dos placas de vidrio para cada concentración y microorganismo. con un total de 24 placas.



3.6.2.11. Incubación

- Se selló correctamente las 24 placas Petri con las diferentes concentraciones.
- Colocar la placa de Petri que contiene los microorganismos en una incubadora a 37°C.
- Después de 24 y 48 horas de cultivo de *Lactobacillus*, se inspeccionó y examinó cada placa y se midió el tamaño de crecimiento de la zona de inhibición.

3.6.2.12. Recolección de datos

- Los datos observados fueron registrados a las 24 y 48 horas en la hoja de recolección de datos. Usando el vernier y regla metálica milimétrica, observando el crecimiento de los halos en una zona iluminada.
- La actividad inhibitoria se evaluó según la escala de Durafford
 - **Nula = > a 0-8 milímetros.**
 - **Sensible = a 9-14 milímetros.**
 - **Muy sensible = a 15 -19 milímetros.**
 - **Sumamente sensible =< 20 milímetros.**
- Para el procesamiento y comparación de los datos se utilizó el programa Excel 15 (Excel 2013) y SPSS versión 22 en la computadora para el análisis de los datos.



3.6.2.13. Análisis estadístico

El análisis estadístico de la distribución de datos utilizó la prueba de estadística t y la prueba de comparación utilizó estadísticas descriptivas (“Tablas, promedios, gráficos”) y estadísticas inferenciales (“WELCH y GAMES-HOWELL”).

3.6.2.14. Instrumentos

- Documento: Ficha de recogida de datos.
- Mecánico: Vernier calibre manual de escala dual 78-201 Stanley y regla metálica milimétrica.

3.6.2.15. Materiales

- Vernier
- Papel craft
- Papel aluminio
- Algodón
- Hisopos estériles
- Pipeta calibrada
- Papel filtro
- Pinza
- Mechero
- Jeringas de 5ml y 20ml
- Agua estéril 1lt
- Agua destilada 5lt
- Alcohol puro al 97 %



- Matraz Erlenmeyer de 260ml
- Placa Petri
- Tubos de ensayo
- Embudo de vidrio
- Matraz
- Equipos de protección personal
- Mandilón azul y blanco descartable
- Gorra descartable
- Mascarilla descartable
- Guantes
- Medios de cultivo
- Agar lactobacillus
- Agar Müller Hilton sangre concentración al 5 %
- Equipos de laboratorio
- Autoclave
- Estufa de 5°centígrados a 220 centígrados
- Incubadora
- Cocina eléctrica
- Balanza analítica
- Balanza de precisión
- Materiales complementarios
- Cámara
- Lapiceros
- Papeles
- Laptop



- Infraestructura
- Este estudio se realizó en el área de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional de Puno, en el año 2023.

3.7. CONSIDERACIÓN ÉTICAS

- Solicitud dirigida al laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno.
- Constancia de identificación de especie de *Lactobacillus reuteri*.
- Constancia de identificación de especie del *Streptococcus mutans*.
- Certificado de la cepa del *Streptococcus mutans*.
- Certificado de la cepa del *Lactobacillus reuteri*.
- Constancia de ejecución de proyecto en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno.
- Consentimiento informado, el cual fue firmada voluntariamente por la madre en proceso de lactancia conociendo el propósito del estudio y el uso de la muestra que se tomó.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

Este capítulo presenta los resultados obtenidos del análisis e interpretación de las mediciones de los halos de inhibición del *Lactobacillus reuteri* del BioGaia (DSM 17938), leche materna humana y de vaca, a concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100%; considerando tablas, indicadores porcentuales y gráficos de las variables estudiadas.

4.1.1. Resultados para el objetivo general

Tabla 2

Actividad inhibitoria del Lactobacillus reuteri aislada del BioGaia (DSM 17938), leche materna humana y leche de vaca frente a cepas del Streptococcus mutans Puno 2023

Producto	Producto	Diferencia de medias	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Leche de vaca	Leche materna	-20,11597*	3,52612	,000	-28,7451	-11,4868
	BioGaia	,00000	,09058	1,000	-,2169	,2169
Leche materna	Leche de vaca	20,11597*	3,52612	,000	11,4868	28,7451
	BioGaia	20,11597*	3,52612	,000	11,4868	28,7451
BioGaia	Leche de vaca	,00000	,09058	1,000	-,2169	,2169
	Leche materna	-20,11597*	3,52612	,000	-28,7451	-11,4868

Nota: Base de datos

Se obtuvo un p-valor de 0.00 comparado con $\alpha=0.05$ (95% de confiabilidad); estadísticamente existe diferencia significativa del efecto

inhibitorio in vitro del *Lactobacillus reuteri* del BioGaia (DSM 17938), en las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100%, a las 24 y 48 horas. Es decir, son significativos frente al *Streptococcus mutans*,

4.1.2. Resultado para el primer objetivo específico

Tabla 3

Determinación de la actividad inhibitoria de la suspensión oral BioGaia (DSM 17938) en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% sobre las cepas del Streptococcus mutans a las 24 y 48 horas

Halo de inhibición a las	Concentraciones	BioGaia					Intervalo de confianza al 95%		% de inhibición	Diferencia %
		Mediana (mm)	Máximo (mm)	Mínimo (mm)	Desviación estándar	Li	Ls			
24 hs	25%	13.52	13.9	13.2	0.19	13.42	13.61	84.55%	15.45%	
	50%	14.12	14.6	13.8	0.25	13.99	14.24	88.31%	11.69%	
	75%	14.57	14.9	14.2	0.18	14.48	14.66	91.12%	8.88%	
	100%	15.19	15.8	14.7	0.34	15.02	15.36	95.00%	5.00%	
48 hs	25%	13.91	14.4	13.6	0.22	13.82	14.02	86.99%	13.01%	
	50%	14.56	14.9	14.1	0.28	14.42	14.72	91.06%	8.94%	
	75%	15.12	15.6	14.7	0.28	14.98	15.26	94.56%	5.44%	
	100%	15.99	16.4	15.7	0.2	15.99	16.09	100.00%	0.00%	
Prueba estadística t		-4.428								
p-valor		0								

Nota: Base de datos



Interpretación:

La Tabla 3 muestra los resultados del análisis de datos de la prueba t estadística realizada en la cepa de *Lactobacillus reuteri* obtenida del producto BioGaia frente la cepa de *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas., obteniéndose un p-valor=0.000 por lo que podemos aseverar que existe diferencia significativa en la actividad inhibitoria. Al mismo tiempo, los valores promedio de 24 y 48 horas se muestran en la Tabla 3 y la Figura 2. Los resultados muestran que, en comparación con las 24 horas, el mejor efecto se observó después de 48 horas en diferentes concentraciones, lo que indica que cuanto mayor es la concentración, mayor es la actividad inhibitora. Efecto de diferentes concentraciones de BioGaia sobre *Streptococcus mutans*. Sin embargo, los resultados mostraron que la actividad inhibitora a una concentración del 100% fue la mejor a las 48 horas con una media de 15,99 mm, seguida de una concentración al 75% a las 48 horas con una media de 15,12 mm; por otro lado, la actividad inhibitora fue más baja a las 24 h a una concentración del 25%. La media es de 13,91 mm. Por tanto, estamos seguros de que cuanto mayor sea la concentración y mayor el tiempo, mejor será el efecto inhibitor. BioGaia tiene una tasa efectiva del 100,00 % a una concentración del 100 % durante 48 horas, seguida de una tasa efectiva del 100 % del 95,00 % a las 24 horas, una diferencia porcentual del 5,00 %. Se analizó la efectividad de la actividad inhibitora entre diferentes concentraciones de BioGaia, 24 cuando la concentración horaria es del 25%, el porcentaje de efectividad es el más bajo y el nivel de inhibición frente a cepas de *Streptococcus mutans* es del 84,55%.

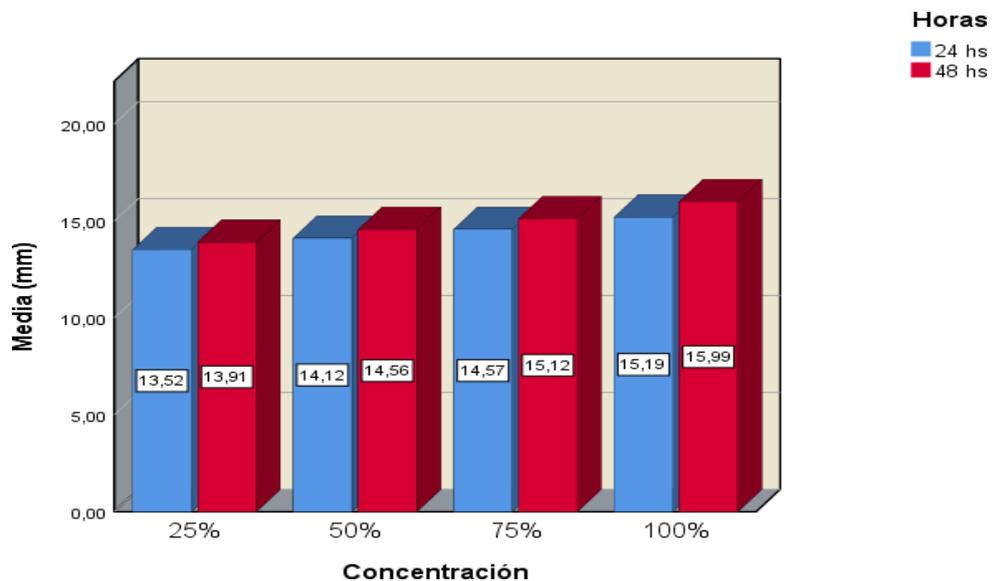
Los datos también fueron sometidos a la prueba de análisis de varianza (WELCH) porque las pruebas de homogeneidad no son iguales, donde se obtuvo

un p-valor de 0.00 comparado con $\alpha=0.05$ (95% de confiabilidad); estadísticamente existe diferencia significativa del efecto inhibitorio in vitro del *Lactobacillus reuteri* del BioGaia (DSM 17938), en las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100%, frente al *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas.

Según la escala de Duraffourd podemos decir, que el *Lactobacillus reuteri* del BioGaia al 25% (13.52), 50% (14.12), 75% (14.57) tiene una escala sensible; en cambio al 100% (15.19) tiene una escala muy sensible a las 24 horas y a las 48 horas el 25% (13.91), 50% (14.56), tiene una escala sensible, en cambio el 75% (15.12), 100% (15.99) tiene una escala muy sensible.

Figura 2

Determinación de la actividad inhibitoria de la suspensión oral BioGaia (DSM 17938) en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% sobre las cepas del Streptococcus mutans a las 24 y 48 horas.



Nota: Tabla 1.

4.1.3. Resultado para el segundo objetivo específico

Tabla 4

Determinación de la actividad inhibitoria del Lactobacillus reuteri aislada de la leche materna humana en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% sobre las cepas de Streptococcus mutans a las 24 y 48 horas.

Leche materna humana									
Halo de inhibición a las	Concentraciones	Mediana (mm)	Máximo (mm)	Mínimo (mm)	Desviación estándar	Intervalo de confianza al 95%		% de inhibición	Diferencia %
						Li	Ls		
24 hrs	25%	24.59	25.5	22.5	0.89	24.15	25.03	96.22%	3.78%
	50%	24.98	26.5	23.5	0.85	24.56	25.41	97.76%	2.24%
	75%	25.17	25.9	24	0.51	24.91	25.42	98.48%	1.52%
	100%	25.29	26.9	24.4	0.65	24.97	25.61	98.96%	1.04%
48 hrs	25%	24.81	25.8	22.8	0.88	24.38	25.25	97.09%	2.91%
	50%	25.34	26.8	23.9	0.87	24.91	25.77	99.15%	0.85%
	75%	25.47	26.1	24.3	0.52	25.21	25.73	99.65%	0.35%
	100%	25.56	27.3	24.6	0.69	25.21	25.91	100.00%	0.00%
Prueba estadística t					-2.195				
p-valor					0.03				

Nota: Base de datos

Interpretación:

En la tabla 4, se muestra el análisis de los datos estadísticos de la prueba t de la cepa *Lactobacillus reuteri* derivada de la leche humana contra la cepa *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas, arrojando un valor de $p = 0,030$. De esto, podemos concluir que existe una diferencia significativa en la actividad inhibitoria. Mientras tanto, en la tabla 4 y figura 3 se muestran los valores promedio para las 24 y 48 h, y se observó que el mejor efecto inhibitorio a diferentes concentraciones fue a las 48 h en comparación con las 24 h. Indicando que, a



mayor tiempo, mejor actividad inhibidora de *Lactobacillus reuteri* en la leche materna humana contra cepas de *Streptococcus mutans*.

Sin embargo, en los resultados se aprecia que la mejor actividad inhibitoria se da en la concentración del 100% a las 48 horas con un promedio de 25.56mm; seguido por la concentración 75% a las 48 horas con un promedio de 25.47mm; la menor actividad inhibitoria tiene la concentración del 25% a las 24 horas con un promedio de 24.81mm. Por lo que afirmamos que a mayor concentración y a mayor tiempo mejor la actividad inhibidora. El *Lactobacillus reuteri* de leche materna humana en la concentración del 100% a las 48 horas tiene un porcentaje de efectividad de 100.00% seguido por la concentración 75% a las 48 horas con un porcentaje de efectividad 99.65%, siendo la diferencia porcentual de 0.35%, analizando los porcentajes de efectividad de la actividad inhibidora entre las concentraciones de *Lactobacillus reuteri* de leche materna humana se tiene que el menor porcentaje de efectividad lo tiene la concentración de 25% a las 24 horas con un 96.22% de efectividad del *Lactobacillus reuteri* de leche materna humana frente a las cepas del *Streptococcus mutans*.

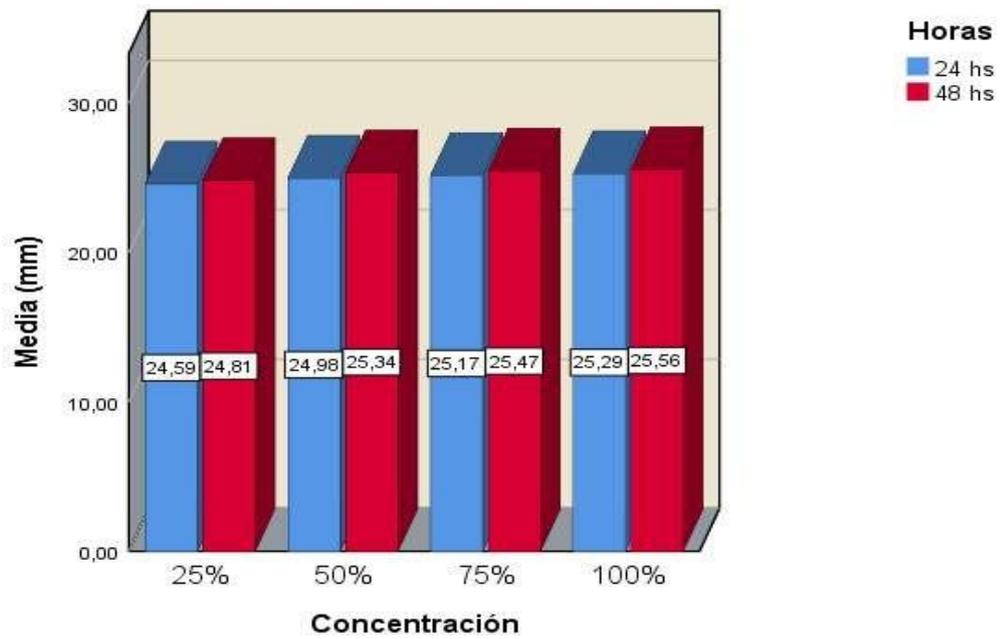
Como la prueba de homogeneidad no fue la misma, también se aplicó a los datos una prueba de análisis de varianza (WELCH). Se obtuvo un valor de p de 0,93 frente a $\alpha = 0,05$ (confiabilidad de 95°). Estadísticamente, la actividad inhibidora in vitro de *Lactobacillus reuteri* contra *Streptococcus mutans* en la leche materna humana en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% fue significativa después de 24 y 48 horas, no hay diferencia.

Según la escala de Duraffourd podemos decir, que el *Lactobacillus reuteri* de la leche materna humana al 25% (24.59), 50% (24.98), 75% (25.17), 100%

(25.29) a las 24 horas y el 25% (24.81), 50% (25.34), 75% (25.47), 100% (25.56) a las 48 horas tienen una escala muy sensible.

Figura 3

Determinación de la actividad inhibitoria del Lactobacillus reuteri aislada de la leche materna humana en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% sobre las cepas de Streptococcus mutans a las 24 y 48 horas.



Nota: Tabla 2

4.1.4. Resultado para el tercer objetivo específico

Tabla 5

Determinación de la actividad inhibitoria del Lactobacillus reuteri aislada de la leche de vaca, en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% sobre las cepas del Streptococcus mutans a las 24 y 48 horas.

Leche de vaca									
Halo de inhibición a las	Concentraciones	Media	Máximo	Mínimo	Desviación estándar	Intervalo de confianza al 95%		% de inhibición	Diferencia %
		(mm)	(mm)	(mm)		Li	Ls		
24 hs	25%	12.88	13.3	12.5	0.26	12.75	13.01	80.44%	19.56%
	50%	13.96	14.5	13.6	0.27	13.83	14.1	87.17%	12.83%
	75%	14.29	14.9	13.7	0.39	14.1	14.49	89.25%	10.75%
	100%	15.11	15.7	14.6	0.33	14.94	15.28	94.35%	5.65%
48 hs	25%	13.36	13.9	12.8	0.31	13.2	13.51	83.39%	16.61%
	50%	14.57	14.9	14.1	0.22	14.46	14.68	90.95%	9.05%
	75%	15.08	15.6	14.5	0.31	14.93	15.24	94.17%	5.83%
	100%	16.02	16.6	15.6	0.31	15.86	16.17	100.00%	0.00%
Prueba estadística t		-4.432							
p-valor		0							

Nota: Base de datos

Interpretación:

En la tabla 5. El análisis de los datos de las pruebas estadísticas de *Lactobacillus reuteri* aislado de la leche frente a cepas de *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas dio un valor de $p = 0,00$, por lo que podemos concluir que existe una diferencia significativa en la actividad inhibidora. Por otro lado, en la Tabla 5 y Figura 4 se muestran los valores promedio para 24 horas y 48 horas, y el resultado es que la mejor actividad inhibidora ocurre después de 48 horas en diferentes concentraciones en comparación con las 24 horas, lo que demuestra que cuanto más tiempo dura el cuanto mejor sea la actividad inhibidora en la leche a



diferentes concentraciones, mayor será la actividad inhibidora de *Lactobacillus reuteri* contra las cepas de *Streptococcus mutans*. Sin embargo, los resultados mostraron que la mejor actividad inhibidora se produjo a las 48 horas a una concentración del 100% con un promedio de 16,02 mm, seguida de 24 horas a una concentración del 100% con un promedio de 15,11 mm, y en tercer lugar a las 48 horas a una concentración del 75%. La actividad inhibidora más baja se presentó a la concentración del 25%, con una media de 15,08 mm a las 24 horas y una media de 12,88 mm. Por tanto, creemos que cuanto mayor sea la concentración y mayor el tiempo, mejor será la actividad inhibidora. *Lactobacillus reuteri* en la leche a una concentración del 100% en 48 horas tiene una tasa efectiva del 100,00%, seguido de una concentración del 100% en 24 horas con una tasa efectiva del 94,35%, una diferencia del 5,65%. comparando la concentración de *Lactobacillus reuteri* en la leche con la actividad inhibidora entre concentraciones, se encontró que la concentración de *Lactobacillus reuteri* al 25% de la leche tuvo el menor porcentaje de efecto inhibidor sobre las cepas de *Streptococcus mutans* en 24 horas, que fue del 80,44%, siendo la diferencia de efectividad porcentual 19,56%.

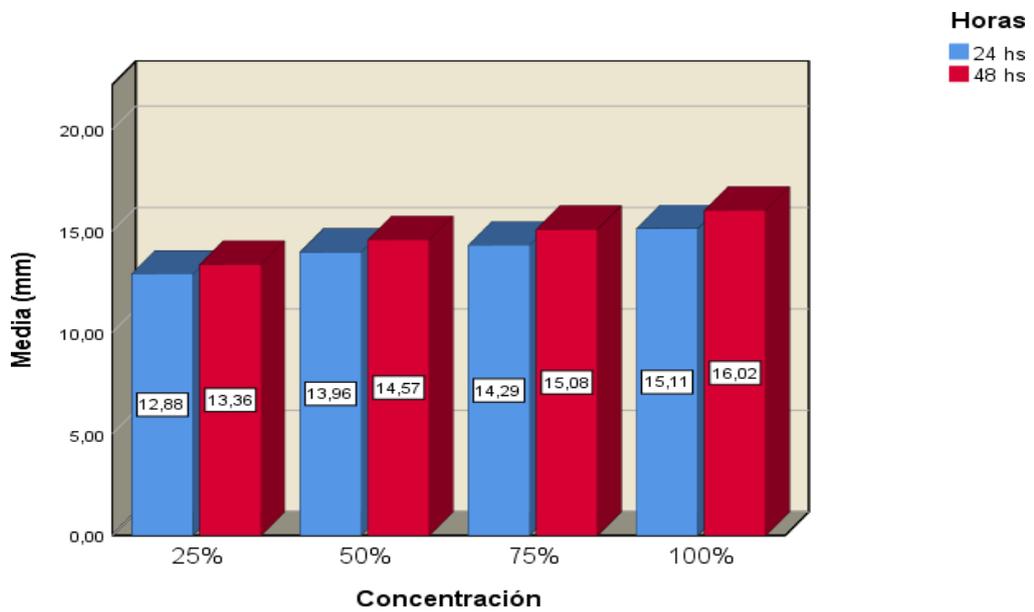
Debido a que la prueba de homogeneidad no es igual, también se aplicó una prueba de varianza (WELCH) a los datos, lo que arrojó un valor de p de 0,00 en comparación con $\alpha = 0,05$ (confiabilidad de 95°). Estadísticamente hubo diferencias significativas en la actividad inhibidora in vitro de *Lactobacillus reuteri* de la leche en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% en comparación con *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 h.

Según la escala de Duraffourd podemos decir, que el *Lactobacillus reuteri* de la leche de vaca al 25% (12.88), 50% (13.96), 75% (14.29) tiene una escala

sensible; en cambio al 100% (15.11) tiene una escala muy sensible a las 24 horas y a las 48 horas el 25% (13.36), 50% (14.57), tiene una escala sensible, en cambio el 75% (15.08), 100% (16.02) tiene una escala muy sensible.

Figura 4

Determinación de la actividad inhibitoria del Lactobacillus reuteri aislada de la leche de vaca en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% sobre las cepas del Streptococcus mutans a las 24 y 48 horas.



Nota: Análisis de datos

Tabla 6

Comparación de la actividad inhibitoria del Lactobacillus reuteri aislada de la suspensión oral BioGaia, leche materna humana y de vaca en concentraciones del 25% 50% 75%100 % sobre las cepas del Streptococcus mutans a las 24 y 48 horas.

APLICACIÓN	PROMEDIO	CONCENTRACIONES			
		25%	50%	75%	100%
<i>Lactobacillus reuteri</i> aislada de la leche materna	halo de inhibición 24 horas	24.59 mm	24.98 mm	25.17 mm	25.29 mm
	halo de inhibición 48 horas	24.81 mm	25.34 mm	25.47 mm	25.56 mm
	porcentaje de inhibición 24 horas	96.21%	97.73%	98.47%	98.94%
	porcentaje de inhibición 48 horas	97.06%	99.13%	99.64%	100%
<i>lactobacillus reuteri</i> aislada de la leche de vaca	halo de inhibición 24 horas	12.88 mm	13.96 mm	14.29 mm	15.11 mm
	halo de inhibición 48 horas	13.36 mm	14.57 mm	15.08 mm	16.02 mm
	porcentaje de inhibición 24 horas	50.39%	54.61%	55.91%	59.11%
	porcentaje de inhibición 48 horas	52.56%	57.00%	58.99%	62.67%
<i>Lactobacillus reuteri</i> aislada del BioGaia	halo de inhibición a las 24 horas	13.52mm	14.12 mm	14.57 mm	15.19 mm
	halo de inhibición a las 48 horas	13.91mm	14.56mm	15.12mm	15.99mm
	porcentaje de inhibición a las 24 horas	84.55%	88.31%	91.12%	95.00%
	porcentaje de inhibición a las 48 horas	86.99%	91.06%	94.56%	100.00%

Nota: Base de datos



Interpretación:

En la tabla 6, se muestra una comparación de los valores medios 24 y 48 horas después de la administración de *Lactobacillus reuteri* aislado de leche materna, leche de vaca y suspensión oral de BioGaia en concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%, los resultados mostraron que *Lactobacillus reuteri*, que se aisló de la leche materna humana en una concentración del 100%, mostró la mejor actividad inhibidora a las 48 horas después de la administración en comparación con las 24 horas en comparación con otras concentraciones y aplicaciones. Esto indica que cuanto mayor sea el tiempo, mayor será la actividad inhibidora. Actividad inhibidora de diferentes concentraciones de *Lactobacillus reuteri* aislados de leche materna humana frente a cepas de *Streptococcus mutans*. Sin embargo, los resultados mostraron que la mejor actividad inhibidora se produjo a una concentración del 100 % durante 48 horas, seguida de una concentración del 75 % durante 48 horas, y la actividad inhibidora más baja se produjo a una concentración del 25 % durante 48 horas. *Lactobacillus reuteri* de la leche 24 horas después de la administración de bacterias del ácido láctico. Por tanto, creemos que cuanto mayor sea la concentración y mayor el tiempo, mejor será la actividad inhibidora. En cuanto a la eficiencia, la eficiencia del uso de leche materna es del 100% durante 48 horas, seguido del 100% de concentración durante 24 horas, con una eficiencia del 98,94%, una diferencia del 1,06% y se analiza el porcentaje de eficiencia. La actividad inhibidora entre las concentraciones de *Lactobacillus reuteri* en la leche difiere de la de *Lactobacillus reuteri* en la leche materna, en términos de concentración está presente al 25% de la concentración de *Lactobacillus reuteri* en la leche. Porcentaje de eficiencia más



bajo. 24 horas frente a cepas de *Streptococcus mutans*. 50,39%, porcentaje real de 24 horas extendido 15,45%.

En la tabla anterior sobre la actividad inhibitoria de la leche de vaca, leche materna y la BioGaia 24 y 48 horas podemos observar claramente que en casi todos los p valores (Sig) son $p < 0.05$, Por lo tanto, al nivel de confianza del 95%, se indica que existe una diferencia significativa en el área de inhibición para las concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% de *Lactobacillus reuteri* a las 24 y 48 horas frente al *Streptococcus mutantes* por ejemplo si vemos el efecto inhibitorio de la leche de vaca a las 24 horas y la leche de vaca a las 48 se puede apreciar que existe diferencias esto es $(14.0625 - 14.7556 = -0.69306)$ lo que nos indica claramente que el efecto inhibitorio de la leche de vaca a las 24 horas es inferior al de las 48 horas, del mismo modo el efecto inhibitorio de la leche de vaca comparado don efecto inhibitorio de la leche materna podemos ver que es significativo es decir la leche materna tiene un efecto mayor $(14,0625 - 40,5069 = -26,44444)$ en 26.44444 en promedio, caso contrario ocurre con la BioGaia las 24 horas dado que esta nos da un p-valor de 1.000 lo que nos indica que la leche de vaca tiene un mejor efecto inhibidor. Por lo que podemos concluir que la leche materna tiene un efecto inhibidor superior a la leche de vaca y la BioGaia.



En los estudios se ha demostrado que los probióticos en especial los *Lactobacillus* poseen efectos benéficos como evidenció Wasfi R., Zafer M., Ashour H. En su investigación mostraron que el *Lactobacillus spp*, puede inhibir y controlar la caries, esto se debería principalmente a la producción de ácidos orgánicos y producción de peróxido y regulación negativa de varios genes de virulencia de *Streptococcus mutans*, incluidos los genes de tolerancia ácida (2). Además, Hanco P, determinó que el fermento de *Lactobacillus plantarum* al 25 por ciento, 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento de concentración posee efecto antimicrobiano sobre el *Streptococcus mutans*(19). En comparación con nuestro presente estudio se ha demostrado que el lactobacillus posee actividad inhibitoria frente a las cepas del *Streptococcus mutans*.

Así también Castañón M., De la Garza M., Cárdenas E., Sánchez R. En su investigación probaron la actividad antimicrobiana in vitro de *Lactobacillus reuteri* frente al *Streptococcus mutans*(6). Por otro lado, Tavella V, Luo X. realizaron una investigación del *Lactobacillus reuteri* que puede producir moléculas antibacterianas como ácidos orgánicos, etanol y reuterina. Debido a su actividad antibacteriana, este género juega un papel importante en la fermentación de los alimentos (11). Así también Lin X., Chen X., Wang S. evaluaron los efectos de las bacterias ácido lácticas como el *Lactobacillus casei* (ATCC 393), *Lactobacillus reuteri* (ATCC 23272), *Lactobacillus plantarum* (ATCC 14917) o *Lactobacillus salivarius* (ATCC 11741) lograron inhibir el crecimiento de *Streptococcus mutans* in vitro e influir en la composición de las biopelículas bacterianas (13). También Bravo J. Morales A. Lefimil C. Galaz C. Evaluaron la eficacia de *Lactobacillus reuteri* en tabletas durante 3 meses, como complemento en el tratamiento de la gingivitis, obtuvieron una reducción de la inflamación severa de las encías (12). En nuestro estudio se encontró relación con esta investigación, por actividad antibacteriana del *Lactobacillus reuteri* aislado de los diferentes productos estudiados, que obtuvo un



buen porcentaje de inhibición contra las cepas de *Streptococcus mutans*, además la aplicación de nuestros resultados servirá para la prevención de la salud bucal.

En la investigación de Apaza D. Realizó un estudio in vitro de un bioyoyurt que contenía *Lactobacillus Reuteri*, *Lactobacillus Rhamnosus* y *Lactobacillus Johnsonii* para determinar el potencial inhibidor sobre *Porphyromona gingivalis*; el *Lactobacillus reuteri* inhibió un halo de (9.25mm) (18). En comparación con nuestro estudio se obtuvieron halos más amplios (*Lactobacillus reuteri* aislado del BioGaia 15mm y *Lactobacillus reuteri* aislado de leche de vaca 16mm) esto se debe a que nuestro presente estudio se realizó en diferentes concentraciones de los *Lactobacillus reuteri* y otro tipo de bacteria.

El *lactobacillus* de la leche posee propiedades antibacterianas; en la investigación de Hernández J, Zuluaga R. Determinaron que algunas proteínas como la lactoferrina de la leche para producir efectos antibióticos para tratar enfermedades causadas por patógenos bacterianos (3). Así mismo Parra Y. En su estudio determinó que las bacterias ácido lácticas presentes en leche cruda, tienen la capacidad de inhibir los patógenos y el deterioro de los alimentos(10). También Castañeda S. Como resultado obtuvo que la leche humana produjo un 29,60% menos de biopelícula y un 24,01% menos de leche de vaca sobre el *Streptococcus mutans*(16). En comparación con nuestro estudio se ha demostrado que el *Lactobacillus reuteri* aislado de leche materna humana y leche de vaca poseen actividad inhibitoria frente al *Streptococcus mutans*, de la cual el *Lactobacillus reuteri* de la leche materna humana tuvo mayor actividad inhibitoria.

Dado que la resistencia bacteriana es un problema global y hay formas de prevenir su aparición todos los días, necesitamos hallar métodos nuevos, menos sintéticos, para combatir los patógenos. La leche es un producto muy biológico, no sólo con propiedades nutricionales, sino también con propiedades antibacterianas que han sido encontradas y



comprobadas en diferentes estudios, debido a que las proteínas (caseína, lactoferrina, lactoalbúmina) son degradadas o por acción enzimática. Además, se ha descubierto que los microorganismos, péptidos, son capaces de luchar contra las bacterias y las enfermedades que se presentan, ya que producen sustancias bactericidas y bacteriostáticas, para impedir el crecimiento y la supervivencia de las bacterias patógenas en el organismo.



V. CONCLUSIONES

- PRIMERA:** El *Lactobacillus reuteri* aislada del BioGaia (DSM 17938), leche materna humana y de vaca, si presentan actividad inhibitoria in vitro frente a cepas del *Streptococcus mutans* tanto a las 24 y 48 horas en las diferentes concentraciones.
- SEGUNDA:** El *Lactobacillus reuteri* del BioGaia (DSM 17938), presenta actividad inhibitoria in vitro sobre las cepas de *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas, teniendo mayor efecto a las 48 horas con un halo de inhibición de 15.99 mm en concentración al 100% con un porcentaje de efectividad de 100.00% y con un menor halo de inhibición de 13.52 mm a las 24 horas en concentración al 25% con un porcentaje de efectividad de 84.55%.
- TERCERA:** El *Lactobacillus reuteri* de la leche materna humana, presenta actividad inhibitoria in vitro sobre las cepas del *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas, teniendo mayor efecto a las 48 horas con un halo inhibición de 25.56 mm en concentración al 100% con un porcentaje de 100.00% y con un menor halo de inhibición de 24.59 mm a las 24 horas en concentración al 25% con un porcentaje efectividad de 96.22%.
- CUARTA:** El *Lactobacillus reuteri* de la leche de vaca, presenta actividad inhibitoria in vitro sobre las cepas del *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas, teniendo mayor efecto a las 48 horas con un halo inhibición de 16.02 mm en concentración al 100% con un porcentaje efectividad de 100.00% y con un menor halo de inhibición de 12.88 mm a las 24 horas en concentración al 25% con un porcentaje de efectividad de 80.44%.



QUINTA: La actividad inhibitoria in vitro del *Lactobacillus reuteri* de la leche materna humana tanto a 24 como 48 horas tiene mejor actividad inhibitoria in vitro del *Lactobacillus reuteri* de la suspensión oral del BioGaia (DSM 17938) y la leche de vaca, en las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100%, frente a cepas del *Streptococcus mutans*.



VI. RECOMENDACIONES

- PRIMERA:** Para lograr mayor eficacia del *Lactobacillus reuteri* aislado del BioGaia (DSM 17938), leche materna humana y de vaca frente al *Streptococcus mutans* y otros agentes patógenos se recomienda realizar más estudios experimentales in vitro de origen animal.
- SEGUNDA:** La relevancia o importancia clínica de esta investigación radica en la aplicación de la medicina complementaria para tratar infecciones de origen bacteriano, corroboradas en estudios in vitro de uso frecuente en la población alto andina y que ayudan a combatir microorganismos durante una infección establecida como la bacteria *Streptococcus mutans* que constituye la primera causa de caries dental.
- TERCERA:** Tras un resultado positivo, con mayor actividad inhibitoria y con un halo de crecimiento de 25.56 mm la leche materna presenta el mejor resultado en cuanto a la siguiente investigación, por lo que se recomienda mayor énfasis en su estudio para siguientes investigaciones futuras.
- CUARTA:** Del mismo modo se sugiere realizar más estudios in vitro del *Lactobacillus reuteri* aisladas de la leche materna humana y de vaca frente a cepas del *Streptococcus mutans*, ya que en la región alto andina no se realizó ningún tipo de estudio comparativo de la misma.
- QUINTA:** Este estudio encontró la importancia de los productos lácteos en el control de las infecciones causadas por *Streptococcus mutans*. Esta información científica puede servir como una base importante para el desarrollo de remedios naturales que sean fácilmente accesibles, asequibles y eficaces.



El objetivo a largo plazo de este estudio es desarrollar productos de higiene bucal utilizando varias muestras que se elaboran en los siguientes estudios.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Calle M, Baldeón R., Curto J, Céspedes I. Teorías de caries dental y su evolución a través del tiempo: Revisión de literatura. Revista Científica Odontológica [Internet]. 2018 Jun [cited 2023 Dec 24];06(01):98–105. Available from: <https://revistas.cientifica.edu.pe/index.php/odontologica/article/view/426/456>
2. Wasfi R., Zafer M., Ashour H. Probiotic Lactobacillus sp. inhibit growth, biofilm formation and gene expression of caries-inducing Streptococcus mutans. J Cell Mol Med [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2023 Dec 24];22(3):1972–83. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5824418/>
3. Hernández J., Zuluaga R. Capacidad antimicrobiana de la leche bovina, caprina y humana con énfasis en Staphylococcus aureus y Escherichia coli. [Internet]. 2020 [cited 2023 Dec 24]. Available from: <https://repositorio.utp.edu.co/server/api/core/bitstreams/e471b778-5bb7-44bd-8427-7b0c78c0fe88/content>
4. Lemos A, Palmer S. The Biology of Streptococcus mutans . Microbiol Spectr [Internet]. 2019 Feb 8 [cited 2023 Dec 24];7(1). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6615571/>
5. Vicario M., Deborah A. Lactobacillus Reuteri Prodentis como agente probiótico en la salud periodontal [Internet]. 2012 [cited 2023 Dec 24]. Available from: <https://www.tdx.cat/handle/10803/83932#page=1>
6. Castañón M., De la Garza M., Sánchez R., Cárdenas E. Antimicrobial Effect of Lactobacillus reuteri on Cariogenic Bacteria Streptococcus gordonii, Streptococcus mutans, and Periodontal Diseases Actinomyces naeslundii and Tannerella forsythia. Probiotics Antimicrob Proteins [Internet]. 2015 Mar 1 [cited 2023 Dec 24];7(1):1–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25422124/>
7. Mai T., Tran D., Roos S., Rhoads M. Human breast milk promotes the secretion of potentially beneficial metabolites by probiotic lactobacillus reuteri DSM 17938. Nutrients [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2023 Dec 24];11(7). Available from:



- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6683045/#:~:text=In%20summary%2C%20human%20breast%20milk,pathways%20evoked%20by%20the%20substrate.>
8. Lyons KE, Ryan CA, Dempsey EM, Ross RP, Stanton C. Breast milk, a source of beneficial microbes and associated benefits for infant health [Internet]. Vol. 12, *Nutrients*. MDPI AG; 2020 [cited 2023 Dec 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7231147/>
 9. García L. Bioquímica de la caries dental. 2010 [cited 2023 Dec 24]; Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2010000200004
 10. Parra Y. Aislamiento de bacterias ácido lácticas obtenidas de leche y queso Paraguay [Internet]. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología; 2020 [cited 2023 Dec 24]. Available from: <https://repositorio.conacyt.gov.py/handle/20.500.14066/3142>
 11. Tavella V., Luo X. Role of *Lactobacillus reuteri* in human health and diseases [Internet]. Vol. 9, *Frontiers in Microbiology*. Frontiers Media S.A.; 2018 [cited 2023 Dec 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5917019/>
 12. Bravo J, Morales A, Lefimil C, Galaz C, Gamonal J. Efectos clínicos de *Lactobacillus reuteri* en el tratamiento de la gingivitis. *Revista clínica de periodoncia, implantología y rehabilitación oral*. 2018 Apr;11(1):32–5.
 13. Lin X., Chen X., Wang S. Effect of probiotic lactobacilli on the growth of streptococcus mutans and multispecies biofilms isolated from children with active caries. *Medical Science Monitor* [Internet]. 2017 Aug 30 [cited 2023 Dec 24];23:4175–81. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5589056/>
 14. Alvarez B., Aguilar S., Cabrera R., Pérez K. Eficacia de la leche materna como inhibidor in vitro de bacterias [Internet]. 2017 [cited 2023 Dec 24]. Available from: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/05/05_10610.pdf
 15. Zalba J., Flichy A. Empleo de probióticos en odontología [Internet]. Vol. 28, *Nutr Hosp*. 2013 [cited 2023 Dec 24]. Available from: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013000700012



16. Castañeda S. Efecto de diferentes leches de alimentación infantil en el crecimiento de *Streptococcus mutans* en el biofilm [Internet]. Ica; 2021 [cited 2023 Dec 24]. Available from: <https://repositorio.unica.edu.pe/server/api/core/bitstreams/efa25c9e-9a1c-4c59-aa2c-fd277ecef5b8/content>
17. García A. Actividad antibacteriana de los probióticos contra bacterias cariogénicas. [Internet]. 2021 [cited 2024 Jan 1]. Available from: https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/71592/Garc%c3%ada_RA_X-SD.pdf?sequence=1&isAllowed=y
18. Apaza D. Estudio in vitro del efecto inhibitorio de un bioyogurt con cepas probióticas: *L.reuteri*, *L.rhamnosus*, *L. johnsonii*, sobre el crecimiento del *porphyromona gingivalis*, en los laboratorios de la UCSM, Arequipa 2016 [Internet]. 2016 [cited 2024 Jan 1]. Available from: <https://repositorio.ucsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12920/5955/64.2670.O.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
19. Ancco P. Efecto antimicrobiano in vitro del *Lactobacillus plantarum* sobre las cepas de *Streptococcus mutans*, -PUNO 2022. 2023.
20. Keller K., Calvo M., Serrano J., Romero C., García N. Human Milk Composition and Nutritional Status of Omnivore Human Milk Donors Compared with Vegetarian/Vegan Lactating Mothers. *Nutrients* [Internet]. 2023 Apr 1 [cited 2023 Dec 24];15(8). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10146700/>
21. Condori L. Caracterización del departamento de Puno. 2023 [cited 2023 Dec 24]; Available from: <https://www.bcrp.gob.pe/docs/Sucursales/Puno/puno-caracterizacion.pdf>



ANEXOS

ANEXO 1: Ficha de recolección de datos del BioGaia

placa	medición de halos de inhibición del BioGaia a las 24 horas				
	repetición / concentración	100%	75%	50%	25%
placa 1	repetición 1	15,5	14,9	13,8	12,5
	repetición 2	15,6	14,8	13,7	12,7
	repetición 3	15,7	14,6	13,9	12,9
	repetición 4	15,4	14,4	13,7	12,8
	repetición 5	15,3	14,7	13,9	12,7
	repetición 6	15,4	14,8	13,8	12,5
placa 2	repetición 1	14,9	14,4	14,1	13,1
	repetición 2	15	14,5	14,3	13,3
	repetición 3	14,8	14,4	14,2	13,2
	repetición 4	15,1	14,1	14,4	13,1
	repetición 5	15,2	14,3	14,5	13,3
	repetición 6	15,4	14,4	14,3	13,2
placa 3	repetición 1	14,9	13,9	13,7	12,9
	repetición 2	14,8	13,8	13,9	12,6
	repetición 3	14,7	13,7	13,8	12,7
	repetición 4	14,9	13,9	13,6	12,8
	repetición 5	14,8	13,8	13,9	12,7
	repetición 6	14,6	13,9	13,8	12,9
	promedio	15,16	14,29	13,96	12,88



PLACA	medición de halos de inhibición del BioGaia a las 48 horas				
	REPETICIÓN / CONCENTRACIÓN	100%	75%	50%	25%
PLACA 1	Repeticón 1	16,1	15,1	14,5	13,9
	Repeticón 2	16,1	15	14,6	14
	Repeticón 3	16,2	15	14,7	14,1
	Repeticón 4	16,4	15,3	14,5	14,2
	Repeticón 5	16,1	15,4	14,8	14,3
	Repeticón 6	16,4	15,1	14,7	14,4
PLACA 2	Repeticón 1	15,9	15,5	14,9	13,8
	Repeticón 2	15,8	15,6	14,7	13,7
	Repeticón 3	15,9	15,4	14,8	13,9
	Repeticón 4	15,7	15,4	14,9	13,7
	Repeticón 5	15,8	15,3	14,8	13,6
	Repeticón 6	15,9	15,2	14,9	13,6
PLACA 3	Repeticón 1	16,1	14,9	14,2	13,9
	Repeticón 2	16	14,8	14,1	13,8
	Repeticón 3	15,9	14,7	14,1	13,9
	Repeticón 4	15,9	14,7	14,2	13,8
	Repeticón 5	15,8	14,8	14,3	13,9
	Repeticón 6	15,9	14,9	14,4	13,9
	PROMEDIO	15,99	15,12	14,56	13,9



ANEXO 2: Ficha de recolección de datos de la leche materna humana

PLACA	MEDICIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN DE LA LECHE MATERNA A LAS 24 HORAS				
	REPETICIÓN / CONCENTRACIÓN	100%	75%	50%	25%
PLACA 1	Repetición 1	24,9	25,5	25,5	23,5
	Repetición 2	25,4	25,0	24	22,5
	Repetición 3	25,6	25,5	24,6	23
	Repetición 4	24,4	25,9	24,5	25
	Repetición 5	24,9	25,4	25,5	25,5
	Repetición 6	25,6	25,0	24,7	24
PLACA 2	Repetición 1	25,4	25,5	24,4	24,5
	Repetición 2	26,9	24,5	25,5	24,5
	Repetición 3	26,4	24,5	24,5	25,3
	Repetición 4	24,9	25,5	24,6	24,9
	Repetición 5	25,6	24,0	25,5	24
	Repetición 6	25,4	25,0	24,5	24,7
PLACA 3	Repetición 1	25,4	24,5	25,5	24,5
	Repetición 2	25,6	25,5	23,5	25,5
	Repetición 3	24,9	25,6	24	25,4
	Repetición 4	24,6	25,0	26	25,3
	Repetición 5	24,4	25,6	26,4	25,5
	Repetición 6	24,9	25,5	26,5	25
	PROMEDIO	25,29	25,17	24,98	24,59



PLACA	MEDICIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN DE LA LECHE MATERNA A LAS 48 HORAS				
	REPETICIÓN / CONCENTRACIÓN	100%	75%	50%	25%
PLACA 1	Repetición 1	25,2	25,8	25,7	23,7
	Repetición 2	25,8	25,2	24,4	22,8
	Repetición 3	25,8	25,9	24,6	23,1
	Repetición 4	24,6	26,1	25,8	25,4
	Repetición 5	25,3	25,8	25	25,5
	Repetición 6	25,3	25,4	24,7	24,5
PLACA 2	Repetición 1	25,8	25,9	25,6	24,4
	Repetición 2	25,6	24,7	24,8	24,9
	Repetición 3	27,3	24,7	25	25,3
	Repetición 4	26,9	25,9	25,8	25
	Repetición 5	25,1	24,3	24,9	24,3
	Repetición 6	25,8	25,2	25,6	25
PLACA 3	Repetición 1	25,6	24,9	23,9	24,8
	Repetición 2	25,9	26,0	24,1	25,5
	Repetición 3	25,3	25,7	26,3	25,8
	Repetición 4	24,8	25,5	26,8	25,5
	Repetición 5	24,6	25,7	26,5	25,8
	Repetición 6	25,3	25,7	26,6	25,3
	PROMEDIO		25,56	25,5	25,34



ANEXO 3: Ficha de recolección de datos de la leche de vaca

placa	medición de halos de inhibición de la leche vaca a las 24 horas				
	repetición / concentración	100%	75%	50%	25%
placa 1	repetición 1	15,5	14,9	13,8	12,5
	repetición 2	15,6	14,8	13,7	12,7
	repetición 3	15,7	14,6	13,9	12,9
	repetición 4	15,4	14,4	13,7	12,8
	repetición 5	15,3	14,7	13,9	12,7
	repetición 6	15,4	14,8	13,8	12,5
placa 2	repetición 1	14,9	14,4	14,1	13,1
	repetición 2	15	14,5	14,3	13,3
	repetición 3	14,8	14,4	14,2	13,2
	repetición 4	15,1	14,1	14,4	13,1
	repetición 5	15,2	14,3	14,5	13,3
	repetición 6	15,4	14,4	14,3	13,2
placa 3	repetición 1	14,9	13,9	13,7	12,9
	repetición 2	14,8	13,8	13,9	12,6
	repetición 3	14,7	13,7	13,8	12,7
	repetición 4	14,9	13,9	13,6	12,8
	repetición 5	14,8	13,8	13,9	12,7
	repetición 6	14,6	13,9	13,8	12,9
	promedio	15,16	14,29	13,96	12,88



PLACA	Medición de halos de inhibición de la leche vaca a las 48 horas				
	REPETICIÓN / CONCENTRACIÓN	100%	75%	50%	25%
PLACA 1	Repetición 1	16,3	15,6	14,1	12,9
	Repetición 2	16,2	15,5	14,3	13
	Repetición 3	16,6	15,4	14,4	13,1
	Repetición 4	16,4	15,3	14,2	13,3
	Repetición 5	16,2	15,4	14,5	13,2
	Repetición 6	16,3	15,3	14,6	12,8
PLACA 2	Repetición 1	16,4	14,9	14,9	13,3
	Repetición 2	15,9	14,7	14,7	13,9
	Repetición 3	15,6	14,9	14,6	13,7
	Repetición 4	15,7	14,8	14,8	13,6
	Repetición 5	16	14,6	14,7	13,5
	Repetición 6	16,1	14,5	14,6	13,7
PLACA 3	Repetición 1	15,8	15,1	14,9	13,8
	Repetición 2	15,6	15	14,7	13,2
	Repetición 3	15,8	15,2	14,6	13,4
	Repetición 4	15,9	15,1	14,5	13,5
	Repetición 5	15,7	15	14,7	13,2
	Repetición 6	15,8	15,2	14,4	13,3
	PROMEDIO	16,02	15,08	14,57	13,36



ANEXO 4: Constancia de identificación de especie del *Lactobacillus reuteri*



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA Y
PARASITOLOGIA



CONSTANCIA DE IDENTIFICACION DE ESPECIE

El que suscribe coordinador de Microbiología y Parasitología de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano Puno, hace constar que:

A solicitud presentada por la Srta. **NATIVIDAD MAGALY PANCCA QUISPE**, y la Srta. **MAGNOLIA ZAMATA ARAPA**, cuyo asunto es la **IDENTIFICACION TAXONOMICA A NIVEL DE ESPECIE DE UNA BACTERIA** para futuro uso experimental.

RESULTADO DE ANALISIS.

ASUNTO: IDENTIFICACION DEL LACTOBACILLUS REUTERI

Bacterias Gram Positivas, varias cepas de *L. reuteri*, descritas por primera vez en la década de 1980, se han utilizado como probióticos. tiene varios efectos positivos en la salud del huésped, entre ellos la prevención y/o mejora de diversas enfermedades. se caracteriza por ser una especie heterofermentativa que crece en atmósferas pobres en oxígeno y coloniza el tracto gastrointestinal de humanos y animales.

PROCEDENCIA:

Cepas obtenidas en el laboratorio de Microbiología Y Parasitología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.

IDENTIFICACION TAXONOMICA

Dominio: bacteria

Filo: firmicutes

Clase: bacilli

Orden: lactobacillales

Familia: latobacillaceae

Género: limosilactobacillus

Especie: lactobacillus reuteri




Lic. BALBINO LORGIO PALACIOS FRISANCHO
Lic. Balbino Lorgio Palacios Frisancho
DNI: 01225964
#SPECIALISTA ADMINISTRATIVO FEBI UNA PUNO



ANEXO 5: Identificación de especie del *Streptococcus mutans*



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA Y
PARASITOLOGIA



CONSTANCIA DE IDENTIFICACION DE ESPECIE

El que suscribe coordinador de Microbiología y Parasitología de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano Puno, hace constar que:

A solicitud presentada por la Srta. **NATIVIDAD MAGALY PANCCA QUISPE**, y la Srta. **MAGNOLIA ZAMATA ARAPA**, cuyo asunto es la **IDENTIFICACION TAXONOMICA A NIVEL DE ESPECIE DE UNA BACTERIA** para futuro uso experimental.

RESULTADO DE ANALISIS.

ASUNTO: IDENTIFICACION DE ESPECIE STREPTOCOCCUS MUTANS

Streptococcus mutans es una bacteria Gram positiva, anaeróbica facultativa que se encuentra normalmente en la cavidad bucal humana, formando parte de la placa dental o del biofilm dental. Se asocia a inicio y desarrollo de caries dental y es la que más tiene influencia en el desarrollo de dicha enfermedad.

PROCEDENCIA:

Cepas obtenidas en el laboratorio de Microbiología Y Parasitología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.

IDENTIFICACION TAXONOMICA

Dominio: Bacteria

Filo: Firmicutes

Clase: Basilli

Orden: Lactobacillales

Familia: Streptococaceae

Género: Streptococcus

Especie: Mutans




Lic. BALBINO LORGIO PALACIOS FRISANCHO

Lic. Balbino Lorgio Palacios Frisancho
DNI: 01226984
ESPECIALISTA ADMINISTRATIVO FISH-UNA PUNO

ANEXO 6: Constancia de la cepa bacteriana



Universidad Nacional Del Altiplano Puno

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA



CERTIFICADO DE LA CEPA BACTERIANA

EL QUE SUSCRIBE:

Certifica que la pureza de *Streptococcus mutans* se ha obtenido tomando en cuenta el siguiente procedimiento:

1. El medio de cultivo que se utilizó para el aislamiento es el agar sangre para observar la actividad hemolítica, y los complejos antígeno anticuerpo.
2. Características ambientales.
 - a. Mesofilo, crece a temperaturas entre 18 a 40 °C.
 - b. Acidofilo, vive en medio de pH bajo.
 - c. Anaerobio facultativo.
3. Para la identificación del *Streptococcus mutans*, se tomó en cuenta criterios fenotípicos.
 - a. Morfología macroscópica, borde Irregular, elevación cóncava, color blanquecino, forma irregular.
 - b. Morfología microscópica, bacteria coco Gram positivo, dispuesta en cadena c.
 - c. Resistencia o sensibilidad a los antibióticos:
 - a. Resistente a la amoxicilina y bacitracina, Sensible a los betalactamicos
 - d. Propiedades bioquímicas, oxidasa y catalasa negativa, fermentación positiva de rafinosa, manitol, meloblosa, trehalosa e inulina; hidrólisis negativa de la esculina en la presencia de bilis e hidrólisis positiva de la esculina en ausencia de bilis; ureasa negativa; hidrólisis negativa de la arginina.

Nota: para la obtención de la cepa pura de *streptococcus mutans* se siguió los métodos estándar propuesto por el Instituto Nacional de Salud (INS).



Lic. BALBINO LORGIO PALACIOS FRISANCHO

Lic. Balbino Lorgio Palacios Frisancho
DNI: 01229964
ESPECIALISTA ADMINISTRATIVO FARMACIA PUNO



ANEXO 7: Constancia de ejecución del proyecto en la FMH



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA



CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA PARASITOLOGÍA Y DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA.

HACE CONSTAR:

Que, los bachilleres **NATIVIDAD MAGALY PANCCA QUISPE**, con código de matrícula 140053, y **MAGNOLIA ZAMATA ARAPA**, con código de matrícula 133871, egresados de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno, han ejecutado su proyecto de investigación titulado "**ACTIVIDAD INHIBITORIA IN VITRO DEL LACTOBACILLUS REUTERI DEL BIOGAIA (DSM 17938), LECHE MATERNA Y BOVINA FRENTE ACEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS PUNO 2023**" en el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la escuela profesional de medicina humana, en los meses de abril, mayo y junio del 2023 para obtener el título profesional de cirujano dentista.

Se emite la presenta constancia a solicitud del interesado para fines que el interesado considere conveniente.

Puno, 27 de septiembre de 2023.



Lic. **BALBINO LORGIO PALACIOS FRISANCHO**

Lic. Balbino Lorgio Palacios Frisancho
DNI: 01225964
ESPECIALISTA ADMINISTRATIVO FMH UNA PUNO



ANEXO 8: Consentimiento informado

DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo **Magnolia Zamata Arapa** he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación.

Recibí una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

	03/06/2023	961251314
Firma	Fecha	Teléfono o celular

Esta parte debe ser completada por el investigador (o su representante)

He explicado a la Sra: Magnolia Zamata Arapa, la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

	958221422	03/06/2023
Firma del investigador	Número de teléfono	Fecha



ANEXO 9: Estadística descriptiva

Prueba t para una media

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
100% 24 horas	18	25.29	0.65	24.97	25.61	166.28	<0.0001
75% 24 horas	18	25.17	0.51	24.91	25.42	208.93	<0.0001
50% 24 horas	18	24.98	0.85	24.56	25.41	124.99	<0.0001
25% 24 horas	18	24.59	0.89	24.15	25.03	117.51	<0.0001

Prueba t para una media

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
100% 48 horas	18	25.56	0.69	25.21	25.90	156.07	<0.0001
75% 48 horas	18	25.47	0.52	25.21	25.73	206.81	<0.0001
50% 48 horas	18	25.34	0.87	24.91	25.77	123.69	<0.0001
25% 48 horas	18	24.81	0.88	24.38	25.25	120.29	<0.0001

Prueba t para una media

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
100% 48 horas	18	25.56	0.69	25.21	25.90	156.07	<0.0001
75% 48 horas	18	25.47	0.52	25.21	25.73	206.81	<0.0001
50% 48 horas	18	25.34	0.87	24.91	25.77	123.69	<0.0001
25% 48 horas	18	24.81	0.88	24.38	25.25	120.29	<0.0001



Prueba t para una media

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
100% 48 horas	18	25.56	0.69	25.21	25.90	156.07	<0.0001
75% 48 horas	18	25.47	0.52	25.21	25.73	206.81	<0.0001
50% 48 horas	18	25.34	0.87	24.91	25.77	123.69	<0.0001
25% 48 horas	18	24.81	0.88	24.38	25.25	120.29	<0.0001

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION	144	0.16	0.11	2.97

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	13.99	7	2.00	3.58	0.0014
APLICACION 24 Y 48 HORAS	13.99	7	2.00	3.58	0.0014
Error	75.85	136	0.56		
Total	89.84	143			

Prueba t para una media

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
LV100% 24H	18	15.11	0.33	14.94	15.28	191.88	<0.0001
LV75%24H	18	14.29	0.39	14.10	14.49	155.99	<0.0001
LV50%24H	18	13.96	0.27	13.83	14.10	219.07	<0.0001
LV25%24H	18	12.88	0.26	12.75	13.01	208.80	<0.0001



Prueba t para una media

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
LV100% 48 H	18	16.02	0.31	15.86	16.17	222.55	<0.0001
LV 75% 48 H	18	15.08	0.31	14.93	15.24	205.72	<0.0001
LV50% 48 H	18	14.57	0.22	14.46	14.68	278.02	<0.0001
LV25% 48 H	18	13.36	0.31	13.20	13.51	183.30	<0.0001

Prueba t para una media

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
B100%24H	18	15.19	0.34	15.02	15.36	188.44	<0.0001
B75%24H	18	14.57	0.18	14.48	14.66	348.14	<0.0001
B50%24H	18	14.12	0.25	13.99	14.24	239.29	<0.0001
B25%24H	18	13.52	0.19	13.42	13.61	309.14	<0.0001

Prueba t para una media

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
B100% 48 H	18	15.99	0.20	15.90	16.09	341.96	<0.0001
B75% 48 H	18	15.12	0.28	14.98	15.26	226.33	<0.0001
B50% 48 H	18	14.56	0.28	14.42	14.70	218.19	<0.0001
B25% 48H	18	13.91	0.22	13.80	14.02	265.86	<0.0001

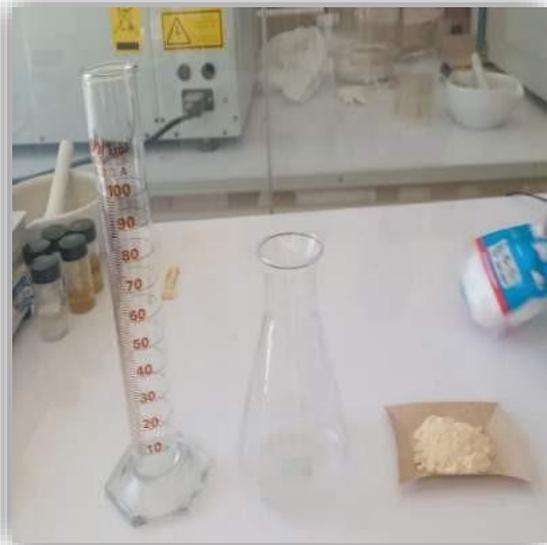
ANEXO 9: Fotografías



**FERMENTO DE LA LECHE DE VACA, MATERNA HUMANA Y LA
SUSPENSIÓN ORAL BIOGAIA**



PESO EXACTO DEL AGAR



DISOLUCIÓN DEL AGAR



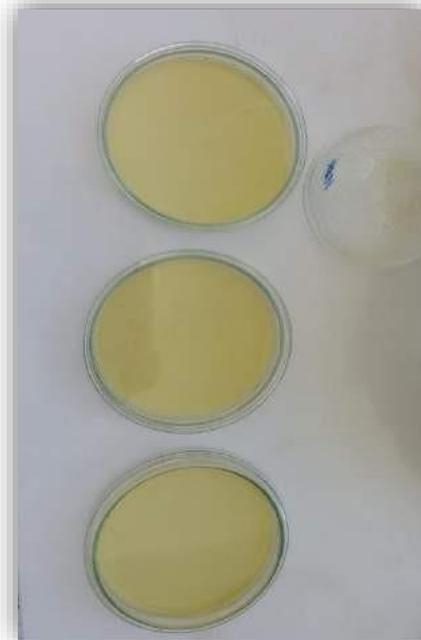
DISOLUCIÓN HOMOGÉNEA DEL AGAR



SELLADO DEL AGAR PARA SER LLEVADO AL AUTOCLAVE



**CERRAR BIEN EL AUTOCLAVE Y
ESPERAR 45 MINUTOS PARA RETIRAR
EL AGAR Y DEJAR ENFRIAR**



COLOCAR EN LAS PLACAS PETRI PARA LA GELIFICACIÓN DEL AGAR



PREPARACIÓN DEL LACTOBACILLUS



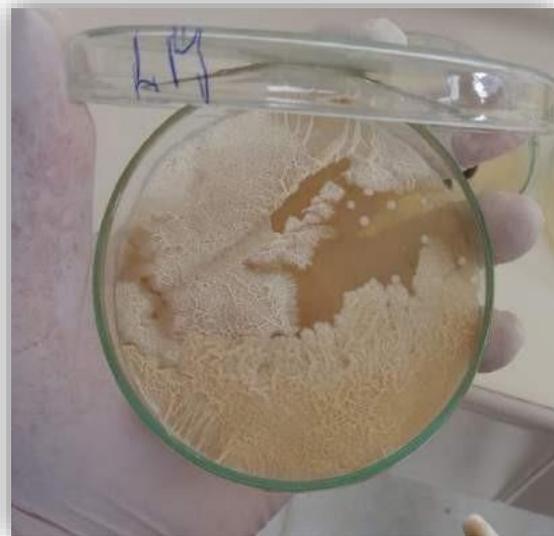
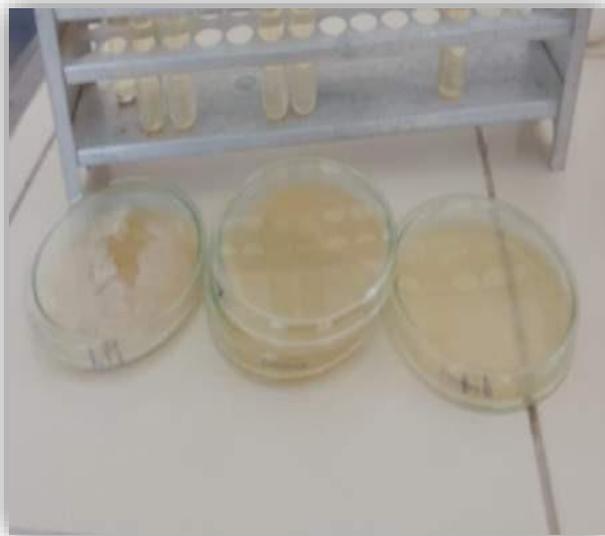
**COLOCACIÓN DEL LACTOBACILLUS
SOBRE EL AGAR**



**COLOCACIÓN DEL LAS
PLACAS EN CAJA DE
ANAEROBIOSOS**



**INCUBACIÓN PARA EL
CRECIMIENTO DEL
LACTOBACILLUS**



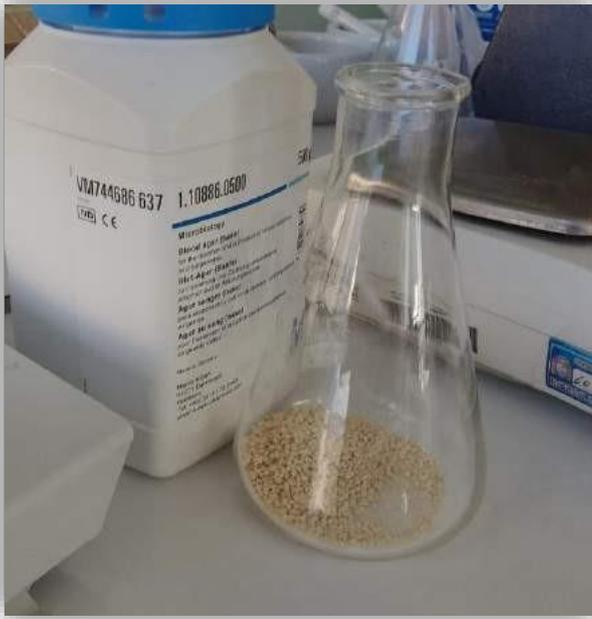
CRECIMIENTO DEL LACTOBACILLUS DE LAS DIFERENTES MUESTRAS



**ESTERILIZACIÓN DEL
AGUA DESTILADA**



**DIVISIÓN DE LA
MUESTRA EN LAS
DIFERENTES
CONCENTRACIONES AL
25%, 50%, 75% Y 100%.**



PREPARACIÓN Y DISOLUCIÓN PARA EL AGAR SANGRE



SELLADO HERMÉTICO PARA ESTERILIZAR EN EL AUTOCLAVE



PREPARACION DEL AUTOCLAVE PARA LA COLOCACION DE AGAR



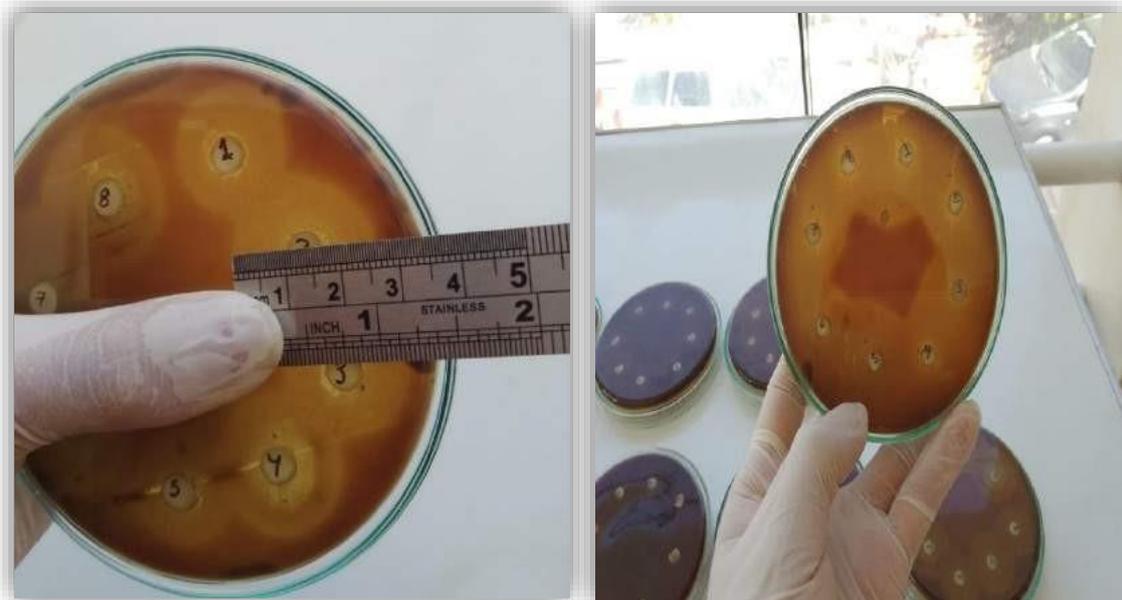
COLOCACIÓN DEL AGAR EN LAS PLACAS PETRI PARA SU GELIFICACIÓN



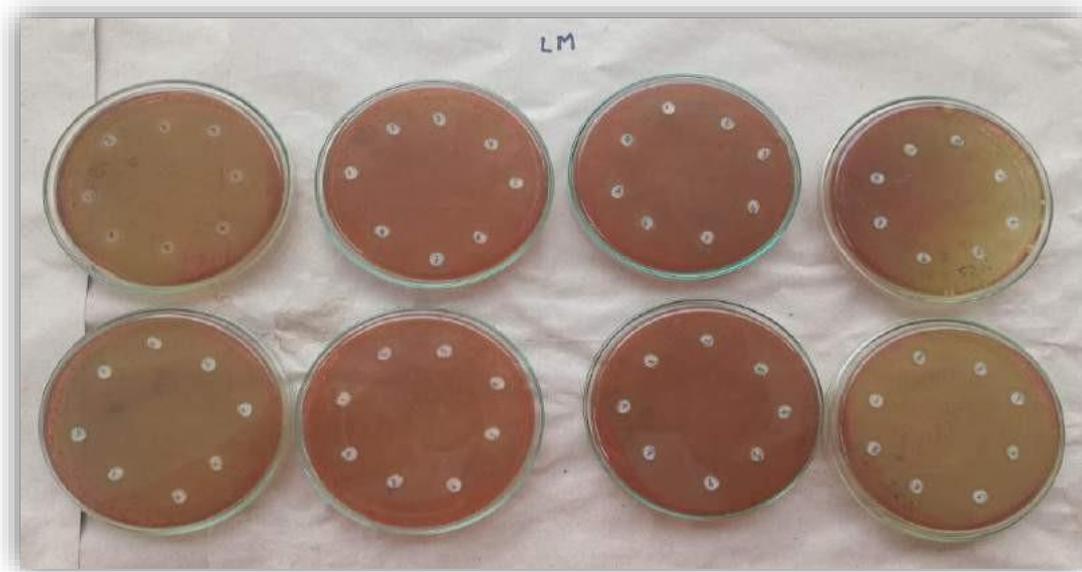
**PLAQUEADO Y COLOCACIÓN DEL PAPEL FILTRO LISTO PARA SER
INOCULADO CON EL LACTOBACILLUS**



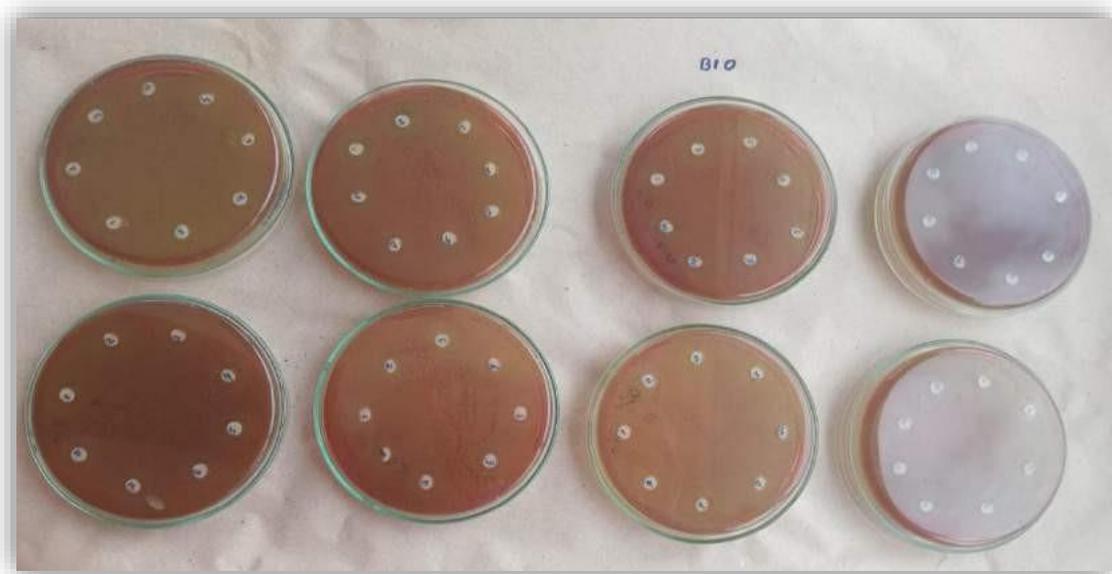
**LLEVAMOS A LA INCUBADORA ARA EL CRECIMIENTO DE HALOS A LAS
24 Y 48 HORAS**



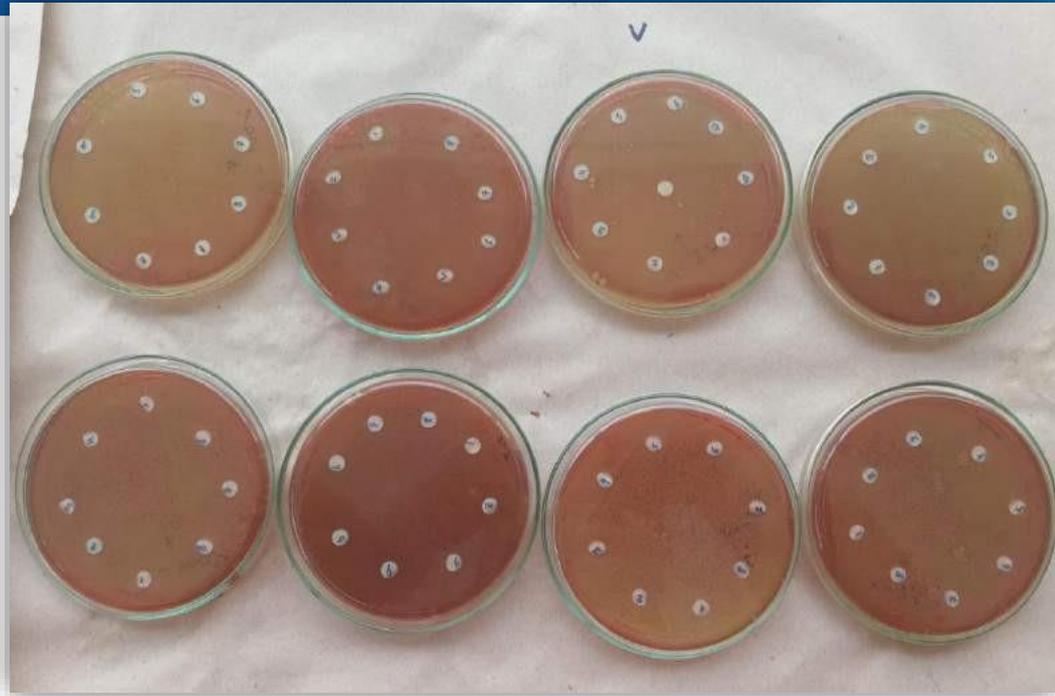
MEDICIÓN Y CRECIMIENTOS DE LAS DIFERENTES MUESTRAS



LECHE MATERNA HUMANA



BIOGAIA



LECHE DE VACA



LAS MUESTRAS TODAS JUNTAS



DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo MAGALIA ZAMATA ARAPA
identificado con DNI 70439791 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado

ODONTOLOGIA

,informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación para la obtención de Grado
 Título Profesional denominado:

"ACTIVIDAD INHIBITORIA IN VITRO DEL LACTOBACILLUS REUTERI DERIVADO DEL BIOGAS, LECHE

MATERNA HUMANA Y DE VACA, FRENTE A CEPAS DEL STREPTOCOCCUS MUTANS PUNO-2023"

" Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

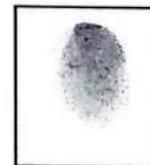
Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 28 de NOVIEMBRE del 2023

FIRMA (obligatoria)



Huella



DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo NATIVIDAD MABELY, PANCCA GUISEP
, identificado con DNI 75364409 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado

ODONTOLOGIA

, informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación para la obtención de Grado
 Título Profesional denominado:

"ACTIVIDAD INHIBITORIA IN VITRO DEL LACTOBACILLUS REUTERI DERIVADO DEL BIOGASIA,
LECHE MATERNA HUMANA Y DE VACA FRENTE A CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS PUNO-2021"

" Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 28 de DICIEMBRE del 2023


FIRMA (obligatoria)



Huella



AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo PANCCA GUISPE, NATIVIDAD MAGALY
, identificado con DNI 75364408 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado
ODONTOLOGIA

, informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación para la obtención de Grado

Título Profesional denominado:

"ACTIVIDAD INHIBITORIA IN VITRO DEL LACTOCOCCUS REUTERI DERIVADO DEL BIOGAS, LECHE POTERNA HUMANA Y DE VACA FRENTE A CEPAS DEL STREPTOCOCCUS MUTANS PUNO - 2023"

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los "Contenidos") que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 28 de DICIEMBRE del 20 23


FIRMA (obligatoria)



Huella



AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo MASNOLIA ZAHATA ARAPA
, identificado con DNI 70439791 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado
ODONTOLOGA

, informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación para la obtención de Grado
 Título Profesional denominado:

"ACTIVIDAD INHIBITORIA IN VITRO DEL LACTOBACILLUS REUTERI DERIVADO DEL BIOGASO, LECHE MATERNA HUMANA Y DE VACA FRENTE A CEPAS DEL STREPTOCOCCUS MUTAN PUNO -2023"

" Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los "Contenidos") que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 28 de DICIEMBRE del 20 23

FIRMA (obligatoria)



Huella